10/E

VOLUME 3 1960 Nº 2

ANNALES

DE L'

INSTITUT PHYTOPATHOLOGIQUE BENAKI

NOUVELLE SÉRIE

KIPHISSIA-ATHÈNES
GRÈCE

25 APR 1961

SOMMAIRE

Démétriadès S. D., Zachos D. G., Panagopoulos C. G. et Holevas C. D. — Rapport sommaire sur les maladies des plantes cultivées, observées en Grèce au cours de l'année 1959 33

Pelekassis C. E. D., Mourikis P. A., Batzakis B. D. et Mlle Alexopoulou P. S. — Rapport sommaire sur les principaux insectes et autres animaux nuisibles, observés en Grèce au cours des années 1958 et 1959 .. 42

Zachos D. G., Constantinou P. Th. et Panagopoulos C. G. — Une trachéomycose du chrysanthème causée par une nouvelle espèce de *Cephalosporium* 50

Zachos D. G. and Panagopoulos C. G. — The bacterium *Pseudomonas sesami* Malkoff in Greece 60

Georgopoulos S. G. and Thanasoulopoulos C. C. — Research on the control of *Sclerotium rolfsii* Sacc. with fungicides 65

Démétriadès S. D., Holevas C. D. et Soultanopoulos C. D. — Sur la possibilité d'empêcher la fructification des oliviers sauvages par l'emploi de produits phytohormoniques 79

Vassiliou A. A., Dadinaki-Roussopoulou Desp., Balayannis Pan. et Spyropoulos G. — Méthode de détermination des résidus de l'insecticide Phosphamidon dans l'huile d'olive.. 83

ANNALES
DE L'
INSTITUT PHYTOPATHOLOGIQUE BENAKI
NOUVELLE SÉRIE

VOLUME 3 1960 N° 2

RAPPORT SOMMAIRE SUR LES MALADIES DES PLANTES CULTIVÉES, OBSERVÉES EN GRÈCE AU COURS DE L'ANNÉE 1959

par

S. D. DÉMÉTRIADÈS, D. G. ZACHOS, C. G. PANAGOPOULOS et C. D. HOLEVAS

Les principales maladies déterminées à l'Institut Phytopathologique Benaki au cours de l'année 1959 sont les suivantes:

VIGNE

1. Dégénérescence infectieuse, dans la région de Vourliota de l'île de Samos et dans la plaine Lilandion de l'île d'Eubée.

2. Dépérissements dus à un greffage défectueux de souches sur des sujets américains, dans la région de Pylis (Tricala).

3. Tumeurs provoquées par la bactérie *Agrobacterium tumefaciens* (Smith et Towns.) Conn, sur des sarments et des bras, à Elaiochorion (Cavala) et à Néapolis (Kozani).

4. Dégâts causés par des herbicides phytohormoniques dans l'île de Chio.

5. La pourriture de racines due à l'*Armillaria mellea* (Vahl.) Quelet a eu une grande extension dans les vignobles, dans la plaine Lilandion en Eubée.

6. L'Oïdium [*Uncinula necator* (Schw.) Burr.], à Kiphissia et aux environs d'Athènes.

7. Carence de fer, à Kiphissia.

8. Esca, à Messopotamos du département de Messénie et dans la région d'Attique.

9. Apparition de taches sur les feuilles, due au champignon *Alternaria sp.*, dans la région d'Athènes.

OLIVIER

1. Pourriture des racines due au *Rosellinia necatrix* (Hart.) Berl., à Astros (Kynouria) et dans l'île de Lesbos.

2. Le *Verticillium albo atrum* Reinke et Berth., déterminé sur des branches et des rameaux, à Philothéi en Attique, Astros (Kynouria) et Aghia Marina de la région de Stylis. Dans cette dernière région le champignon attaqua un grand nombre d'arbres et occasionna des dégâts considérables.

3. Le *Pseudomonas savastanoi* (E. F. Smith) Stevens, dans la région de Janina et à Aghios de l'île d'Eubée.

4. Le *Cycloconium oleaginum* Cast., provoqua une chute considérable de feuilles et de fruits, à Astros (Kynouria) et dans l'île de Corfou. Ce même champignon a été aussi repéré à Aghion dans l'île d'Eubée.

5. Des fumagines, à Astros (Kynouria) et à Aghia-Marina de la région de Stylis.

6. Le *Macrophoma dalmatica* (Thüm.) Berl et Vogl. à Aghios en Eubée.

AGRUMES

1. Carence de fer dans l'île de Cos.

2. Carence de zinc et de manganèse à Lessia de la région de Trézène et à Léonidion (Kynouria).

CITRONNIER

1. Le *Deuterophoma tracheiphila* Petri, à Aghios-Prokopios dans l'île de Corfou et à Corakovounion (Kynouria).

2. Carence de fer, à Kiphissia, à Poros de la région de Trézène, dans la région d'Attique et dans celle de Nauplie.

3. Carence de manganèse, dans la région de Nauplie.

MANDARINIER

1. Oleocellosis, dans quelques régions de l'île de Chio.

2. Carence de fer, dans la région de Nauplie.

ORANGER

1. Carence de magnésium, à Lefkimmi dans l'île de Corfou, à Arta et à Léonidion (Kynouria).

2. Carence de manganèse, à Lefkimmi (Corfou).

3. Carence de zinc, à Lefkimmi (Corfou) et à Astros (Kynouria).

4. Carence de fer, à Lefkimmi (Corfou), à Poros (Trézène) et dans la région d'Athènes.

5. Attaque du collet par le champignon *Phytophthora sp.* à Lefkimmi (Corfou).

6. La bactérie *Pseudomonas syringae* van Hall, à Chochlasti (Gargaliani).

7. Le *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. sur des rameaux, à Pamphion de la région de Trichonis.

ARBRES FRUITIERS

AMANDIER

1. Le *Sclerotinia laxa* Aderh. et Ruhl., dans la région d'Athènes.

2. Le *Polystigma ochraceum* (Wahl.) Sacc. sur des feuilles, à Léonidion (Kynouria).

3. L'*Agrobacterium tumefaciens* (Smith et Townsend) Conn, sur des arbustes, dans l'île de Cos.

POIRIER

1. Rouille produite par le *Gymnosporangium sabinae* (Dicks.) Wint., dans la région de Malacassion du département de Tricala et à Astros (Kynouria).

2. Une forte attaque des fruits due au *Botrytis cinerea* Pers. a été signalée durant la deuxième quinzaine de juin, à Léchaion de Corinthie. Le développement du parasite a été favorisé par les pluies fréquentes de mai et de juin et par les températures relativement basses de cette période. Les dégâts produits furent considérables.

3. Un *Septoria sp.*, dans la même région.

4. Le *Fusicladium pirinum* (Lib.) Fck., à Aghios-Constantinos en Locride.

ABRICOTIER

1. Le *Sclerotinia laxa* Aderh. et Ruhl., à Dervénakia de Corinthie et à Kiphissia.

2. Le *Clasterosporium carpophilum* (Lév.) Aderh., dans la région d'Iria près de Nauplie.

3. L'Oïdium *(Oidium sp.)*, dans la région de Tirynthe près de Nauplie.

4. Carence de fer, dans la région de Nauplie.

PRUNIER

1. Le *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berth., dans la région de Kozani. La maladie à causé d'importants dégâts à plus de 40 stremmes de jardins fruitiers.

NOYER

Dégâts dus à l'action de chlorures, à Poros de la région de Trézène.

COGNASSIER

Attaque des fruits par le *Gymnosporangium sp.*, à Arnaia.

NÉFLIER

Le *Fusicladium eriobotryae* (Cav.) Sacc., à Argostoli dans l'île de Céphalonie et à Kiphissia.

POMMIER

1. L'Oïdium [*Podosphaera leucotricha* (Ell. et Everh.) Salm.], dans la région de Naoussa.
2. Carence de potassium, à Nikiti en Chalcidique.
3. Dégâts consécutifs aux «insolations hivernales», à Néapoli (Kozani) et dans la région de Verria.
4. Roussissement des fruits occasionné par de fréquentes pulvérisations de Captan en doses un peu au-dessus de la norme, dans la région de Tégée en Arcadie.

PISTACHIER

1. Le *Septoria pistacina* Allesch. et *Septoria pistaciarum* Car. sur des feuilles, à Léontion dans l'île d'Egine et dans l'île de Thira (Santorin).
2. Deux cas de graves dégâts causés par l'hadromycose due au *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berth., dans la région d'Athènes. Le même champignon a été aussi observé dans la région d'Astros (Kynouria).
3. Dégâts dus à un manque de fécondation, dans l'île de Thira (Santorin) et à Tatoï en Attique.

PÊCHER

1. Le *Stereum purpureum* Pers., provoquant «le plomb», à Rhizarion (Edessa).
2. Carence de fer, à Rhizarion (Edessa), dans l'île de Cos et à Arnissa.
3. Carence de zinc et de manganèse, à Rizarion (Edessa).
4. L'*Agrobacterium tumefaciens* (Smith et Townsend) Conn, à Nea Artaki (Chalcis).

PLANTES INDUSTRIELLES

COTONNIER

1. Le *Rhizoctonia solani* Kühn, dans la région de Larissa.

2. Attaque de la tige des plantes par l'*Alternaria sp.*, à Stavros dans la région de Pharsala.

3. Le *Verticillium albo-artum* Reinke et Berth., à Amphiclia de Locride.

TABAC

1. La pourriture des racines due au *Thielaviopsis basicola* (Berk. et Br.) Ferr., ayant causé d'importants dégâts aux pépinières, à Aghios Konstantinos en Locride.

2. Attaque du collet par le *Phytophthora parasitica* Dastur var. *nicotianae* (Br. de Haan) Tucker, à Tithoréa (Locride).

3. Le *Pseudomonas tabaci* (Wolf et Foster) Stevens, à Agrinion, ainsi que dans les environs des villages Matsoukion, Strato, Aghios-Constantinos, Paravola, Kainourghio, Papadato et Kato Kérassovo (Étolie et Acarnanie), ayant causé des dommages considérables. La maladie a été favorisée par les fréquentes chutes de pluies en mai et en juin.

4. L'Oïdium (*Erysiphe cichoracearum* DC.), dans ces mêmes régions.

LIN

Le *Septoria linicola* (Speg.) Gar., à Larissa et à Copaïs.

SÉSAME

1. Le *Pseudomonas sesami* Malkoff, à Dourouti de la région de Janina, à Arta et à Aghios Spyridon (Arta), dans la région de Préveza et à Copaïs. Cette bactérie, observée pour la première fois en Grèce, a été grandement favorisée par les conditions de température et de pluie qui régnèrent durant l'été 1959, et a causé dans certaines régions des dégâts considérables.

2. L'*Alternaria sp.*, dans la région de Copaïs.

BETTERAVE SUCRIÈRE

1. Le *Phoma betae* (Oudem.) Frank., à Pharsala de la région de Larissa.

2. Le *Erysiphe sp.*, dans la région de Lévadia.

PLANTES POTAGÈRES

POMME DE TERRE

1. Pourritures bactériennes humides de tubercules, à Messini (Messenie), dans la région de Thèbes et dans celle de Drama.

2. Attaque du collet par un *Phytophthora sp.*, dans l'île d'Andros et à Copaïs.

3. Mildiou provoqué par le *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, à Aliartos en Béotie.

4. Le *Pseudomonas solanacearum* (E. F. Smith) E. F. Smith, sur des tubercules, à Ano Phanarion (Trézène).

5. Un *Fusarium sp.*, sur des tubercules, dans la région de Drama.

6. Anomalies de croissance des tubercules (Growth crack), dans l'oliveraie de Thèbes.

7. Hadromycose provoquée par le *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berth., dans l'île d'Andros.

OIGNONS

Forte attaque des cultures par le *Peronospora destructor* (Berk) Casp., dans la région de Psachna de l'île d'Eubée. Le même champignon a été observé dans la région d'Attique.

LAITUE

Le *Bremia lactucae* Regel, à Lykovryssi en Attique.

AUBERGINE

Hadromycose causée par le *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berth., à Léonidion (Kynouria) et à Argos.

GOMBO

1. Carence de fer et de magnésium, à Komnina (Locride).

2. Le *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berth., dans la région de Psachna (Eubée).

MELON

1. Hadromycose causée par un *Fusarium sp.*, à Lefkochorion (Locride), à Artaki (Eubée) et dans la région de Psachna (Eubée). Dans cette dernière région les cultures furent atteintes au delà des normes habituelles.

2. Le Virus de la Mosaique du concombre *(Cucumis virus 1)* en pourcentage très élevé sur les variétés «Krithino» et «Arghitiko», dans la région de Psachna (Eubée) et dans celle de Nauplie. Le même virus a été observé dans la région de Vassilikon de l'île d'Eubée.

PIMENT

1. Le *Rhizoctonia solani* Kühn sur des plantules, à Lycovryssi en Attique.

2. La pourriture du sommet (Blossom end rot) sur des fruits, à Nauplie et à Halandri en Attique.

TOMATE

1. Le *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary sur des fruits, à Zacharo dans la région de l'Olympie.

2. Dégâts produits par un myxomycète sur des plantules, à Tirynthe près de Nauplie.

3. Attaque des fruits par le *Diplodina lycopersici* (Cke.) Hollos, à Lessia (Trézène).

4. Virus de la Mosaique du tabac, dans la région de Poros (Trézène).

5. Malformations de fruits (Catface) dues à des troubles physiologiques, dans l'île d'Egine.

6. Hadromycose causée par le *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berth., à Poros (Trézène).

7. Pourriture du sommet (Blossom end rot), dans la région d'Attique.

8. Mosaïque Aucuba, à Marcopoulo (Oropos).

9. Hadromycose due au *Fusarium sp.*, à Zacharo (Olympie) et dans la région de Nauplie.

AIL

1. Le *Sclerotium cepivorum* Berk., à Xylagani de la région de Rhodope.

2. Un *Puccinia sp.*, dans la région d'Attique.

SCORSONÈRE

Le *Phytophthora* et l'*Albugo tragopogonis* (Pers.), à Halandri en Attique.

LÉGUMINEUSES

VESCE

Le *Botrytis cinerea* Pers. ayant causé des dégâts considérables, à Almyros et à Pharsala de la région de Larissa.

POIS - CHICHE

L'*Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr., dans la région d'Attique et à Komnina en Locride.

FÈVE

Le *Botrytis cinerea* Pers., à Tirynthe (Nauplie).

POIS

1. L'*Ascochyta pisi* Lib. ayant occasionné des dégâts considérables, à Scala du département de Laconie.

HARICOT

1. Le *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) Massee et quelques dégâts consécutifs à une humidité excessive, à Platées de la région de Thèbes.

2. Dégâts dus à l'action de chlorures, à Galata de l'île de Poros.

CÉRÉALES

BLÉ

Le *Cercosporella herpotrichoides* Fron et *Septoria tritici* Rob. et Desm., à Paradimi (Rhodope).

PLANTES ORNEMENTALES

BÉGONIA

L'*Oidium begoniae* Putt., à Kiphissia.

OEILLET

1. L'*Uromyces caryophyllinus* (Schr.) Wint., à Amaroussion et à Acharnès (Attique).

2. Hadromycose causée par le *Phialophora cinerescens* (Wr.) van Beyma, dans la région d'Attique.

GÉRANIUM

Le *Xanthomonas pelargonii* (Brown) Starr et Burkholder à Kiphissia.

GLAIEUL

1. Un *Fusarium sp.* sur des bulbes, à Kiphissia.

2. Un *Botrytis sp.* sur des plantes en serre, à Lessia de l'île de Poros.

CYDONIA

Carence de fer, à Kiphissia.

EVONYMUM

Le *Microsphaera evonymi* (DC.) Sacc., à Kiphissia.

NARCISSE

Un *Fusarium sp.* sur des bulbes, dans la région d'Athènes.

DAHLIA

Le Virus de la Mosaïque du Dahlia, à Kiphissia.

ROSIER

Le *Sphaerotheca pannosa* (Wallr.) Lév., à Kiphissia et à Lycovryssi en Attique.

Ann. Inst. Phytopath. Benaki, N.S. 3 : 42-49, 1960.

RAPPORT SOMMAIRE SUR LES PRINCIPAUX INSECTES ET AUTRES ANIMAUX NUISIBLES, OBSERVÉS EN GRÈCE AU COURS DES ANNÉES 1958 ET 1959

par

C. E. D. PELEKASSIS, P. A. MOURIKIS, B. D. BATZAKIS et Mlle P. S. ALEXOPOULOU

Ce rapport comprend les insectes et autres animaux nuisibles aux cultures, déterminés au Laboratoire Entomologique de l'Institut Phytopathologique Benaki. On n'a pas estimé opportun d'y mentionner un certain nombre d'importants ennemis des plantes cultivées, tels que les espèces *Polychrosis botrana* (Schiff.), *Phloeotribus scarabaeoides* Bern., *Prays oleellus* (Fabr.), *Ceratitis capitata* Wiedemann, *Carpocapsa pomonella L.*, diverses espèces de la famille des Élatérides et autres, parce que les dommages qu'ils occasionnent tous les ans sont à peu près de la même étendue. On notera, cependant, qu'en 1959 le grand ennemi de l'olivier, la **Mouche des olives**, *Dacus oleae* (Gmel.), n'a pas causé à la production oléicole les dommages habituels des années précédentes, mais seulement quelques dégâts limités. En effet, dans la plupart des oliveraies du pays, le fruit s'est conservé sain, du point de vue oléicole, jusqu'à l'automne avancé (octobre), même dans des régions où aucun traitement insecticide n'avait eu lieu ; c'est seulement dans un petit nombre de cas que l'on a observé quelques légères attaques, après la fin du mois d'octobre.

Les insectes et autres animaux examinés sont répartis ci-dessous par genre de culture attaquée.

SUR VIGNE

1. **Le Phytopte de la vigne,** *Eriophyes vitis* (Landois) Nal., a causé quelques dégâts (érinose) à des feuilles de vigne, à Kiphissia.

2. **Le Phylloxera de la vigne,** *Viteus vitifolii* (Fitch), a continué de se propager dans presque toute l'Attique.

3 **La Cochenille farineuse de l'oranger et de la vigne,** *Planococcus citri* (Risso) [= *Pseudococcus citri* (Risso) = *P. vitis* (Niedl.)]

a été signalée par des dégâts au raisin, notamment dans la région d'Almyros en Magnésie et d'Héracleion dans l'île de Crète.

SUR OLIVIER

1. **Le Psylle de l'olivier,** *Euphyllura olivina* Costa, a fortement attaqué les fleurs, à Amaroussion d'Attique et dans l'île de Lesbos.

2. **La Cochenille noire de l'olivier,** *Saissetia oleae* (Bern.), a endommagé des oliveraies dans les régions de Gythion, Astros, Stylis, Attique et Locride; mais c'est surtout dans l'île de Corfou qu'à partir de 1954 elle a causé de sérieuses attaques suivies d'un développement excessif de fumagines. Depuis lors, la maladie est devenue endémique, notamment au sud de l'île, avec des prolongements vers le centre et le nord. A partir de 1959 une régression appréciable est signalée dans les régions du sud.

3. La cochenille *Philippia oleae* (Costa), en nombreuses colonies, a été observée sur de jeunes rameaux, à Ekali d'Attique.

4. **La Cochenille du lierre** *, *Aspidiotus hederae* (Vallot), a été signalée sur des feuilles, à Kiphissia.

5. La cochenille *Parlatoria oleae* (Colvée) Lind., a causé des dégâts aux olives de la même région.

6. L'hétéroptère *Calocoris trivialis* Costa, a été signalé par des dégâts aux fleurs, à Carpénissi.

7. Dans quelques oliveraies d'Astros dans la région de Kynourie, un otiorrhynque *Otiorrhynchus sp*, a fortement attaqué les feuilles.

8. Le lépidoptère *Margaronia unionalis* (Hubn.), a causé en 1959 des dégâts considérables aux feuilles, aux jeunes pousses et aux fruits de l'olivier, à Roviès dans l'île d'Eubée et dans la région de Pélion.

SUR AGRUMES

MANDARINNIER

Le Pou rouge des orangers *, *Chrysomphalus dictyospermi* Morg., s'est révélé nuisible aux fruits à Prévéza et aux rameaux à Kiphissia.

CITRONNIER

1. Le nématode *Tylenchulus semipenetrans Cobb,* s'est attaqué

* Dans la liste des noms communs du Ministère du Canada, publiée en 1951, sous le titre: «Liste officielle des noms français des insectes d'importance économique au Canada» et preparée par le Comité permanent des noms français de la Société de Quebec pour la Protection de Plantes, se rapporte cette espèce sous le nom commun, **Kermès du Laurier-rose** et l'espèce *Chrysomphalus dictyospermi* Morg. sous le nom **Kermès de l'oranger.**

aux racines et a causé des dégâts notables dans l'île de Chios et à Vassilikon de la region de Corinthie.

2. Un acarien *Brevipalpus sp.,* a été signalé nuisible aux fruits à Prévéza et à Sykia en Corinthie.

3. **La Cochenille farineuse de l'oranger et de la vigne,** *Planococcus citri* (Risso), également aux fruits à l'île de Leucade.

4. Le lépidoptère, *Prays citri Mill.,* a attaqué les fleurs à Ano Diminio de la région de Corinthie.

ORANGER

1. **Le Tétranyque tisserand,** *Tetranychus telarius L.,* a causé d'importants dégâts, notamment aux orangerais d'Aghios-Ioannis dans la région de Sparte, où 50% de la production ont été atteints. Les fruits attaqués présentaient près du pédoncule des symptômes d'«oleocellosis». Une proportion considérable des fruits tombèrent avant de parvenir à maturité.

2. Un lépidoptère *Argyroploce sp.,* a été observé nuisible aux oranges de la variété «Navel orange», à Aghios-Andréas en Kynourie.

SUR ARBRES FRUITIERS

1. Dégâts signalés sur des racines d'arbres fruitiers à Catérini en Macédoine dus au **Capnode des arbres fruitiers,** *Capnodis tenebrionis L.*

2. Dégâts notables signalés dans la région de Yannitsa, dus à différentes espèces de Scarabéides *(Potosia sp., Cetonia sp., Anomala sp.).*

ABRICOTIER

1. **Le Capnode,** *Capnodis tenebrionis L.,* a été signalé à Pendéli d'Attique.

2. La tordeuse *Cacoecia rosana L.,* a été constantée assez nuisible aux feuilles de la province de Nauplie à Asini et dans la région d'Attique.

AMANDIER

1. Un pourcentage élevé de racines d'arbustes a été attaqué dans des pépinières de l'île de Cos par une espèce de Scarabéides, du genre *Amphimallus.*

2. L'hyménoptère *Eurytoma amygdali* Endl., a endommagé les fruits à Arnissa du departement de Pellis.

1. **Le Psylle du figuier,** *Homotoma ficus* Guer., a fortement attaqué les feuilles des arbres dans la région d'Athènes.

2. **Le Céroplaste du figuier**, *Ceroplastes rusci* L., a été signalé sur des fruits, des feuilles et des rameaux, à Kiphissia.

PISTACHIER

1. Forte attaque du coleoptère *Chaetoptelius vestitus* (Muls. & Rey) Fuchs sur de jeunes rameaux, dans l'île d'Egine.

2. Le lépidoptère *Stathmopoda guerini* Staint., a causé des dégâts aux fruits, à l'île d'Egine.

3. L'hyménoptère *Eurytoma plotnikovi* Nikol'sk. (=*?E. pistaciae* Anagnos), a aussi causé des dégâts aux fruits, dans des jardins fruitiers de Palaion Phaliron d'Attique.

CERISIER

1. Au printemps de l'année 1959 les fleurs ont été fortement attaquées par le *Taeniothrips vulgatissimus* (Hallid.). L'attaque s'est étendue à toutes les cerisaies de la région, sur une surface d'environ 40 hectares.

2. Dans cette même région les feuilles ont été attaquées par le coléoptère *Phyllobius oblongus* (L.).

3. Toujours dans la même région, le coléoptère *Rhamphus pulicarius* Herbst, en grand population, a été signalé par des dégâts aux feuilles.

POIRIER

1. **Le Phytopte du poirier**, *Eriophyes pyri* (Pagenst.) Nal., a été observé sur les feuilles, à N. Psychikon d'Attique et à Arnissa de la région d'Edesse.

2. Un autre acarien, le *Eriophyes vitis* (Landois) a été observé également sur les feuilles, à Pélasghia du département de Phthiôtide.

3. **Le Tétranyque tisserand**, *Tetranychus telarius* L., a été observé, toujours sur les feuilles, à Léchaion de la province de Corinthie.

4. L'hyménoptère *Eriocampoides limacina* Retzius, a été signalé par des dégâts sur les feuilles, à Pélasghia en Phthiôtide.

5. Le diptère *Apiomyia bergenstammi* (Wachtl.), a causé des dégâts aux rameaux, à Astros de Kynourie.

POMMIER

1. **Le Puceron lanigère du pommier,** *Eriosoma lanigerum* (Hausm.), a causé des dégâts à Morfi dans la région de Cozani.

FIGUIER

2. **Le Tigre du poirier,** *Stephanitis pyri* (Geoff.) (=Tingis pyri Fabr.), a fortement attaqué les feuilles, aussi à Morfi.

PRUNIER

Le Capnode, *Capnodis tenebrionis* L., a été signalé par des dégâts aux racines, en Attique.

JUJUBIER

Attaque des fruits par la **Mouche des fruits,** *Ceratitis capitata* Wiedemann, à Kiphissia.

SUR PLANTES INDUSTRIELLES

BETTERAVES SUCRIÈRES

1. Le coleoptère *Lixus ascanii* L., a provoqué des dégâts considérables aux racines de certaines variétés de betteraves sucrières, dans les champs d'expérimentation du Ministère d'Agriculture, à Lycovryssi en Attique.

2. L'espèce *Lixus scabricollis* Boheman, a été signalé conjointement avec l'espèce ci-dessus.

3. Toujours dans la même région on a aussi signalé des attaques de la **Mineuse de l'épinard,** *Pegomyia hyoscyami* (Panz.), sur des feuilles.

SUR PLANTES POTAGÈRES

POMME DE TERRE

1. **Le Nématode doré de la pomme de terre,** *Heterodera rostochiensis* (Wollen.), a causé en 1958 de grands dégâts dans la plaine de Thèbes et réduisit considérablement la production de la plus grande partie des 1.200 hectares plantés de pommes de terre.

2. Un acarien, *Tetranychus sp.,* a été signalé par des dégâts aux feuilles dans les champs d'expérimentation de la Station d'Essais et de Contrôle des Semences à Chalandri en Attique. Cet acarien a d'abord provoqué sur les feuilles l'apparition de taches noirâtres de dimensions diverses et plus tard, le desséchement complet des feuilles.

3. **La Teigne de la pomme de terre,** *Phthorimaea operculella* (Zeller), a été signalée par des dégâts à des tubercules emmagasinés à Lycovryssi d'Attique et dans des plantations de pommes de terre, à Larissa.

TOMATE

L'acarien *Tetranychus telarius* L., a été constaté nuisible aux plantes, à Hiérapétra dans l'île de Crète.

SUR LEGUMINEUSES

FÈVE

Le Charançon rayé du pois, *Sitona lineatus* L., a attaqué les champs de fèves de l'École d'Agriculture à Aghii Assomati dans la région de Réthymnon et à Messara de la région d'Héracleion en Crète.

HARICOT

1. L'acarien *Tetranychus telarius* L., a causé des dégâts aux cultures de haricots, à Néa Makri d'Attique.

2. **La Mouche du grain de maïs,** *Phorbia platura* Meigen (=*Hylemyia cilicrura* Rond.), s'est fortement attaquée aux graines en germination, à Zacholi de la province d'Evrostini.

SUR CÉRÉALES

1. Les punaises des céréales, *Aelia rostrata* Boheman et *Eurygaster maura* L., ont provoqué en 1958 de grands dégâts à 5.000 hectares de culture de blé, à Copaïs. Dans certains cas la densité des insectes était supérieure à 300 unités par mètre carré. Ces espéces, apparues de bonne heure au printemps (fin de mars), se sont attaquées d'abord aux tiges de blé et d'orge et plus tard aux épis et aux graines. L'attaque s'est limitée au champ de Copaïs, sans s'étendre aux plantations adjacentes de la plaine de Thèbes.

Aux cages d'élevage d'*Eurygaster maura* L., on a prélevé les parasites *Clytiomyia hellyo* (F.). (*Diptera: Tachinidae*), ainsi que le parasite des oeufs du même *Eurygaster, Pteromalus artemon* Walker (*Hymenoptera: Pteromalidae*), qui furent envoyés à l'étranger, afin d'y être déterminés *.

2. Le coléoptere *Barytychius hordei* Brullé, s'est attaqué aux champs de blé de la plaine de Thèbes, où il a causé par endroits de grands dégâts. Cette espèce ne s'est pas révélée nuisible aux champs de blé de Copaïs.

3. Un coléoptere du genre *Bembidion*, a causé des dêgats considérables aux céréales de l'École d'Agriculture d'Aghii Assomati de la région Réthymnon. Il a notamment attaqué le blé, l'orge et l'avoine, à l'époque de la germination.

4. Le coléoptère *Hybalus graecus* Reitt. (=*H. cornifrons Brullé*),

---

* Nous devons la détermination des ces parasites a l'obligeance et aux bons soins de la Desse Kellner et de M. Dupuis (du Museum d'Histoire Naturelle, Paris), ainsi que de M.L. Tsacas. Nous leurs en exprimons ici nos plus vifs remerciements.

cause au cours de ces dernières années de notables dégâts aux céréales de l'île de Zante.

5. Le lépidoptère *Syringopais temperatella* (Led.), a causé des dégâts dans l'île de Lesbos.

6. **L'Oscinie**, *Oscinella frit* (L.), a fortement attaqué les épis de l'orge à Carditsa.

SUR PLANTES ORNEMENTALES

1. L'hétéroptère *Pyrrhocoris apterus* L., a été signalé dans un jardin de fleurs à Athènes.

2. Un autre hétéroptère *Scantius aegyptius* L., a été déterminé aussi, dans un jardin de la même région.

LAVANDE

Le coléoptère *Chrysomela americana* L., a été de nouveau signalé dans certains jardins de fleurs, à Kiphissia d'Attique.

GLYCINE

La tordeuse, *Cacoecia rosana* L., a causé quelques dégâts à Kiphissia.

SUR PLANTES FORESTIÈRES

CAROUBIER

La Pyrale des caroubes, *Myelois ceratoniae* Zeller, a été signalée par des dégâts aux lobes, à Léonidion dans la région de Kynourie.

PIN

Un scolyte *Myelophilus sp.*, s'est attaqué aux jeunes rameaux à Kiphissia.

SAULE

Forte attaque du **Charançon de l'aune,** *Cryptorrhynchus lapathi* L., sur des racines dans la région d'Argos.

SUR RUCHES

La Teigne des ruches, *Galleria melonella* (L.), a causé des dommages à ruches, à Aghios Constantinos de l'île de Samos.

SUR BOIS TRAVAILLÉ ET SUR TISSUS

1. Le termite *Reticulitermes lucifugus* (Rossi), a été observé attaquant les parquets, à Chalandri, et les portes en bois, à Boyati d'Attique.

2. Le coléoptère *Bostrychus capucinus* L., a été observé dans des parquets, à Psychikon près d'Athènes.

3. Un autre xylophage, le coléoptère *Lyctus brunneus* Stainton, a causé des dégâts aux parquets d'une maison d'Athènes.

4. Le coléoptère *Attagenus lobatus* Rosenh., a été constanté nuisible sur des tapis de laine dans une maison d'Athènes.

5. **L'Anthrène des tapis,** *Anthrenus scrophulariae* L., a détruit des tissus de laine à Rhodes.

DIVERS

1. Le coléoptère *Mezium affine* Boield. (=*M. sulcatum* Fabr.), a été déterminé dans quelques maisons d'Athènes.

2. Également dans une maison d' Athènes a été signalé un hétéroptère, du genre *Reduvius*, qui pique l'homme.

Ann. Inst. Phytopath. Benaki, N. S., 3 : 50-59, 1960.

UNE TRACHÉOMYCOSE DU CHRYSANTHÈME CAUSÉE PAR UNE NOUVELLE ESPÈCE DE *CEPHALOSPORIUM*

par

D. G. ZACHOS, P. TH. CONSTANTINOU et C. G. PANAGOPOULOS

Des maladies occasionnées par différentes espèces de *Cephalosporium* ont été signalées jusqu'à présent sur le maïs (11), le blé (9), le tabac (22), sur certaines espèces de la famille des *Araceae* (7, 8), sur le kaki (4), le soya (1), le céleri (20), le figuier (21) et sur certaines espèces forestières (5, 6). Dans la plupart de ces cas il s'agissait de trachéomycoses typiques et, dans les autres, de taches sur les feuilles et sur la tige ou de chancres sur les branches et sur le tronc.

Pendant l'été 1956 nous avons eu l'occasion d'examiner dans la région d'Athènes une nouvelle maladie du chrysanthème, provoquée par une espèce nouvelle de ce même champignon. Cette maladie, qui réapparut l'année suivante et endommagea de nouveau la culture des chrysanthèmes, a fait l'objet d'une investigation spéciale dont nous consignons ici les résultats.

SYMPTOMES DE LA MALADIE

La plante malade présente le fasciés des plantes atteintes de trachéomycose. Il n'y a pas le syndrome d'apoplexie mais on y observe un dessèchement progressif de la plante.

Au début de la maladie les feuilles, notamment celles de la partie inférieure de la plante, sont frappées d'une chlorose qui, peu à peu, s'étend jusqu' aux feuilles du sommet.

La chlorose des feuilles est très caractéristique et commence à partir du pétiole pour s'étendre aux nervures médiane et latérales. Plus tard, les tissus du limbe entourant les nervures deviennent aussi chlorotiques et finissent par jaunir. La décoloration du limbe peut se manifester sur l'une des deux moitiés de feuille (Fig. 1, II, IV), ou s'étendre de part et d'autre de la nervure médiane (Fig. 1, III). Les tissus jaunes se dessèchent peu à peu (Fig. 2, II, IV). On peut ainsi

Fig. 1. Feuilles de chrysanthème présentant les symptômes d'attaque par le *C. chrysanthemi* n. sp. (Explications dans le texte).

Fig. 2. Feuilles de chrysanthème présentant les symptômes d'attaque par le *C. chrysanthemi* n. sp. (Explications dans le texte).

Fig. 3. Tige de chrysanthème portant une nécrose longitudinale provoquée par le *C. chrysanthemi* n. sp.

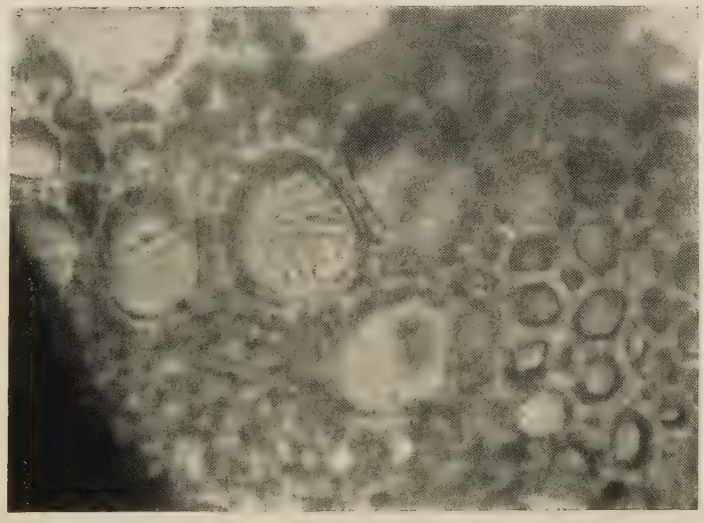


Fig. 4. Coupe transversale de la tige montrant les hyphes du champignon dans le lumen du bois.

observer simultanément sur la même feuille des tissus verts, chlorotiques et desséchés de couleur brune (Fig. 2). Finalement la feuille entière se dessèche.

Sur la tige principale apparaissent, des nécroses linéaires longitudinales de couleur rose qui se change plus tard en brun rouge ou brun noir. Elles s'étendent sur plusieurs centimètres, parfois le long de la tige jusqu'aux bourgeons secondaires (Fig. 3). Les bourgeons latérals et les feuilles qui se trouvent sur le chemin de ces nécroses se dessèchent.

En coupe longitudinale de la tige, on observe une décoloration rose des vaisseaux. D'autre part, en coupe transversale l'examen microscopique révèle dans les vaisseaux du bois d'hyphes mycéliennes et de spores du champignon (Fig. 4).

Finalement, après un laps de temps dont la durée dépend de la saison, les plantes attaquées se dessèchent entièrement.

CAUSE DE LA MALADIE

I. Isolement - Pathogenèse. En prélevant, aseptiquement, a l'intérieur de la tige de petits morceaux des tissus altérés et en les portant sur un milieu stérile de jus de pommes de terre gélosé additionné de glucose, nous n'avons pas eu de difficulté à isoler un champignon qui s'est trouvé appartenir au genre *Cephalosporium* Corda. Une série d'isolements réitérés, pratiqués sur un grand nombre de plantes attaquées, ont donné constamment le même parasite.

Étant donné que le champignon précité n'a pas été signalé jusqu'à présent parmi les parasites du chrysanthème, notamment en tant que cause de trachéomycose, et que par ailleurs il arrive fréquemment que certaines espèces de ce même genre accompagnent en parasites secondaires l'attaque d'autres champignons, il a été jugé nécessaire de confirmer par voie expérimentale le pouvoir pathogène du parasite isolé.

A cet effet on s'est servi d'un certain nombre de plantes en pot, saines et hautes de 40 - 50 centimètres. L'inoculation fut pratiquée par l'introduction d'une masse d'hyphes mycéliennes et de spores d'une culture du champignon âgée de 15 jours dans de petits trous percés au moyen d'une aiguille stérilisée dans la partie inférieure de la tige. Les points d'inoculation étaient recouverts de coton humide stérilisé et, à l'extérieur, de matière plastique retenue par un ruban gommé Entre le 19^{e} et le 33^{e} jours à compter de l'inoculation, les

plantes inoculées commençaient à présenter graduellement la gamme entière des symptômes précédemment décrits. Les plantes témoins ne présentèrent point de symptômes.

Des plantes inoculées on isolait de nouveau le même parasite à une distance de 25 à 30 cm. du point d'inoculation.

II. Morphologie du parasite. Le champignon cultivé dans du jus de pommes de terre gélosé additionné de glucose à 2 °/₀, donne une culture généralement d'un blanc rosé, tournant plus tard en brun rouge. Mais cette couleur n'est pas fixe; on voit apparaître dans des boîtes de Petri des secteurs de couleurs différentes, notamment de couleur grise. Les nombreuses cultures réalisées à partir d'une spore ont produit des colonies de couleurs et de formes diverses, où dominaient les blanches rosées et les grises. D'autre part, le champignon isolé de diverses plantes malades a donné, pour la plupart, des cultures blanches rosées et, pour le reste, des cultures grises.

La nature de cette variation de couleur n'a pas fait l'objet de notre examen et nous nous bornerons à tracer ici les caractéristiques de ces deux formes, qui dans nos expériences se sont avérées pathogènes, ayant toutes les deux provoqué la maladie avec tous ses symptômes.

La première de ces deux formes, cultivée dans le milieu nutritif précité et dans des boîtes de Petri à la température du laboratoire, développe au 15^{e} jour une colonie duveteuse de 4,5 cm. de diamètre environ, de couleur blanche rosée en dessus, et pourpe jaune brune en dessous. Les extrémités se terminent par une marge blanchâtre de 2 - 4 millimètres (Fig. 5). La seconde forme, sous les mêmes conditions de culture, donne une colonie large de 6 cm. environ, gris souris ou parfois gris vert en dessus et gris vert ou gris olivâtre en dessous, bordée d'une marge blanchâtre également large de 2 - 4 millimètres (Fig. 5). La colonie grise apparaît plus duveteuse que la précédante sur un diamètre d'environ 4 cm. à partir du centre, où se forme ordinairement une légère protubérance plus duveteuse, de contexture bouclée. En son 30^{e} jour environ, cette colonie devient gris blanc en dessus et gris noir en dessous.

Il semble que la température exerce une influence notable sur la forme des cultures du champignon; en effet, à des températures stables de 20° C et au dessous, les bords des cultures produites apparaissent irregulièrement sinués (Fig. 6). Bruehl (2) a signalé à propos du *Cephalosporium gramineum* une influence analogue de la température sur les caractéristiques des cultures.

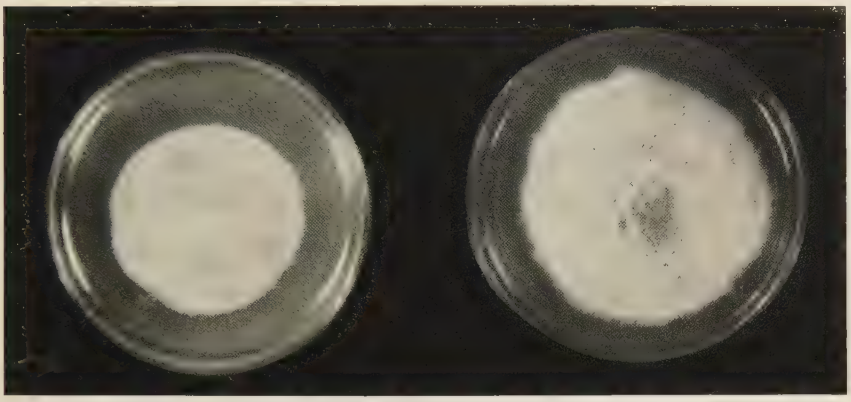


Fig. 5. Cultures du *C. chrysanthemi* n sp. A gauche, la forme de couleur blanc rosé. A droite la forme de couleur gris.

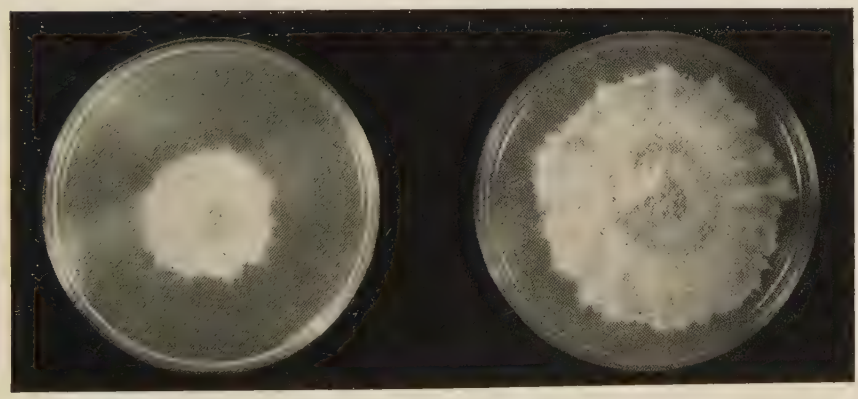


Fig. 6. Cultures du *C. chrysantemi* n. sp. forme grise présentant les bords irrégulièrement sinués A gauche, culture développée à la température de 10° C. A droite, à la température de 20° C.

Fig. 7. Mycélium du *C. chrysanthemi* n. sp. portant des conidiophores et des glomérules de spores.

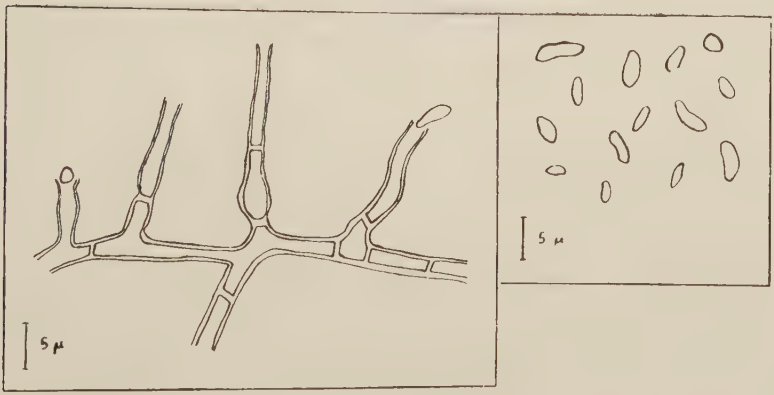


Fig. 8. Conidiophores et spores du *C. chrysanthemi* n. sp.

A ces deux formes le mycélium du champignon est septé hyalin large de 1,6-4,8 μ et en moyenne 2,8 ± 1 μ. Sur les hyphes mycéliennes poussent les conidiophores, au sommet desquels se forment les spores. Ceux-ci s'agglutinent restant groupées en glomérules (Fig. 7). Les conidiophores sont phialiformes et portent un ou plusieurs septes (Fig. 8). La plupart sont simples, mais quelques uns se ramifient une fois en forme de fourche ou d'angle droit. Leur longueur varie de 5 à 24 μ, en moyenne 12 ± 5 μ, et leur largeur de 1,6 à 4 μ, en moyenne 2,6 ± 0,7 μ. Les glomérules de spores sont sphériques et ont 5 - 12 μ de diamètre, en moyenne 8,4 ± 1,6 μ (Fig. 7). Les spores sont monocellulaires, ellipsoïdales ou cylindriques (Fig. 8), et atteignent in situ, c'est-à-dire quand elles se développent sur des rameaux contaminés placés en chambre humide, les dimensions enregistrées au tableau I.

TABLEAU I

Dimensions des spores du *Cephalosporium* isolé en μ

	Forme blanche rosée	Forme grise
Longueur		
taux extrêmes	2,1—5,4	2,7—5,4
moyenne	3,1 ± 0,6 (2,5—3,7)	3,6 ± 0,6 (3—4,2)
Largeur		
taux extrême	0,8—1,9	1,1—1,8
moyenne	1,4 ± 0,2 (1,2 - 1,6)	1,45 ± 0,13 (1,3—1,6)

III. Classement du champignon. Les caractères microscopiques du *Cephalosporium* isolé ainsi que les caractéristiques de la culture ne s'identifient aux caractères d'aucune d'entre les espèces mentionnées par Saccardo (13 - 19) ou décrites jusqu'à présent par d'autres chercheurs (2, 3, 5, 6, 8, 9, 20, 21, 22). Les dimensions des spores de l'espèce *C. charticola* Lindau, cité par Rabenhorst (10) sont les mêmes que celles de notre champignon, de plus, les glomérules des spores sont de même diamètre. Cependant, les deux espèces diffèrent considérablement tant par la largeur du mycélium que par la forme de conidiophores, ceux de l'espèce *C. charticola* étant plus longs, plus fins et se terminant en pointe. Les différences entre les deux espèces ont

été d'ailleurs constatées par l'étude comparée des deux cultures[1].

Les dimensions des spores de notre espèce sont à peu près les mêmes à celles que notent Saccardo (13), Rabenhorst (10) et Reddy et Holbert (11) pour les spores du *C. acremonium*. Ces derniers auteurs, qui ont étudié le *C. acremonium* en tant que parasite du maïs, rapportent en outre que la culture de celui ci prend au début une coloration rosée. Néamoins, l'espèce qui provoque la trachéomycose du chrysanthème ne s'identifie pas au *C. acremonium*, dont elle diffère aussi bien par la forme de la culture que par la largeur du mycélium, par la longueur, la largeur et la forme des conidiophores et par le diamètre des glomérules.

Cultivées dans un milieu nutritif de jus de pommes de terre gélosé additionné de glucose à 2%, certaines espèces connues du genre *Cephalosporium* prennent une coloration blanche rosée, comme le *C. diospyri* (4), ou blanche tournant en rosâtre au début et en gris clair plus tard, comme le *C. carpogenum* (12), ou blanche devenant grise comme le *C. gregatum* (1) ou blanche tournant rapidement en jaune rouge canelle, comme le *C. cinnamomeum* (7). Comparées à notre *Cephalosporium*, qui sur le même milieu nutritif prend des colorations analogues, les espèces précitées présentent certaines différences morphologiques, nettement marquées. Ainsi, le *C. diospyri* diffère par la largeur du mycélium, par la longueur et la forme des conidiophores et par la largeur des spores. Le *C. carpogenum* diffère par la largeur des hyphes, par la longueur et la largeur des conidiophores et par la longueur des spores. Le *C. gregatum* forme à la culture des plissements radiés nettement visibles et diffère en outre par la largeur et par le groupement en faisceaux des conidiophores et par les dimensions des spores. Enfin, le *C. cinnamomeum*, comparé au nôtre, présente aussi un grand nombre de différences.

D'autre part, l'étude comparée entre le *Cephalosporium* du chrysanthème et les espèces *C. charticola*, *C. acremonium*, *C. carpogenum*, *C. malorum* et *C. gramineum*, a révélé plusieurs différences morphologiques.

Par conséquent, les différences observées aussi bien dans les caractères microscopiques du *Cephalosporium* isolé que dans ses cultu-

---

[1] Les cultures des espèces *C. charticola*, *C. acremonium*, *C. carpogenum*, *C. malorum* et *C. gramineum*, qui nous étaient nécessaires pour faire la comparaison avec notre espèce, nous ont été procurées par le Baarn Centralbureau voor Schimmelcultures.

res, en comparaison avec les espèces de ce genre précédemment décrites, et, en outre, le fait que ce champignon n'avait pas été observé jusqu'à présent sur le chrysanthème, permettent de considérer l'espèce isolée comme une espèce nouvelle, que nous designons *Cephalosporium chrysanthemi* n. sp.

Voici la description de l'espèce en latin: *Mycelium in culturis lanosum, primum albo-roseum dein bruneorubrum (forma prima) vel primum griseum dein albo-griseum (forma secunda); hyphis sterilibus hyalinis, septatis, ramosis 1,6-4,8 (2,8±1) μ crassis; conidiophoris brevibus, phialiformibus, simplicibus vel raris ramosis, continuis vel septatis 5-24 (12 ± 5) μ longis, 1,6-4 (8 ± 0,7) μ crassis; conidiis in capitula globosa 5-12 (8,4 ± 1,6) μ, hyalinis, continuis, ellipticis vel cylindraceis, in hospitibus 2,1-5,4 (3,1 ± 0,6) × 0,8-1,9 (1,4 ± 0,2) μ (forma prima) vel 2,7-5,4 (3,6 ± 0,6) × 1,1-1,8 (1,45 ± 0,13) μ (forma secunda).*

Hab. in caulibus plantarum vivarum Chrysanthemum sp. Athena, Graecia.

SUSCEPTIBILITÉ DES VARIÉTÉS DU CHRYSANTHÈME A LA MALADIE

Le *Cephalosporium* que nous avons isolé du chrysanthème ne s'attaque pas à toutes les variétés de cette plante, mais seulement à quelques-unes d'entre elles. La maladie fut observée pour la première fois en plein champ sur deux variétés qui en furent grandement endommagées, tandis que d'autres variétés cultivées dans le même champ se montraient resistantes. Ces deux variétés susceptibles à la maladie sont appelées par les fleuristes, l'une «Boule de neige», l'autre «Krémaki tardif»; cette dernière variété est en effet de floraison tardive et, par conséquent, difficile à remplacer.

Pour compléter l'investigation nous avons examiné de surcroît la sensibilité de treize autres variétés provenant de Hollande, parmi lesquelles les Rolinda, Champion et Frieda qui se sont montrées résistantes à la maladie.

CONDITIONS DE TEMPÉRATURE FAVORABLES AU DÉVELOPPEMENT DU CHAMPIGNON

L'intensité avec laquelle la maladie s'est déclarée durant les mois d'été indiquait que le développement du parasite est probablement favorisé par les hautes températures. Pour mieux étudier cette influence de la température nous avons cultivé le champignon dans des boîtes de Petri contenant du jus de pommes de terre gélosé additionné

de glucose, à des températures de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 27 et 30° C. Pour chacune de ces températures on a utilisé trois boîtes pour la forme blanche rosée et trois boîtes pour la forme grise du champignon. Le diamètre des colonies développées à chacune de ces températures était mesuré le 16e jour et l'on tirait la moyenne de trois mesures. Les résultats de cette expérience, qui fut répétée à trois respises, apparaissent sur le graphique de la figure 9. Il en ressort qu'à des

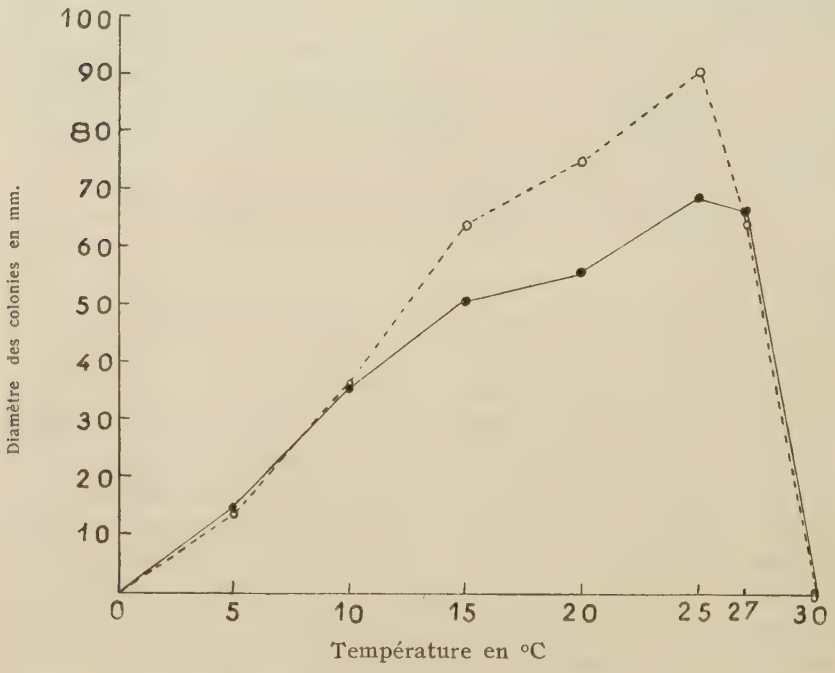


Fig. 9. Développement du *Cephalosporium chrysanthemi* n. sp. au bout de 16 jours à différentes températures. La forme blanche rosée est représentée par la courbe en trait plein et la forme grise en tirets.

températures supérieures à 10° C, la forme grise du champignon se développe plus rapidement que la forme blanche rosée, mais, pour l'une forme comme pour l'autre, l'optimum de développement se trouve à 25° C. Le développement du parasite est à peu près du même ordre à 27° C et demeure satisfaisant à 20 et à 15° C. Au-delà de 27° C le développement se trouve entravé et, à partir de 30° C, il s'arrête complètement.

On voit par ce qui précède que le *C. chrysathemi* est un champi-

gnon de hautes températures, capable d'occasionner des dégâts en été et, en deuxième lieu, au printemps et à l'automne.

Les inoculations artificielles pratiquées tous les mois de mars à octobre montrèrent que la durée d'incubation de la maladie varie entre 19 et 33 jours, les taux les plus bas correspondant aux mois de juin, juillet et août, et les plus élevés aux mois de printemps et d'automne.

LUTTE CONTRE LE PARASITE

Pour combattre la maladie il a été recommandé aux cultivateurs de prendre les mesures suivantes:

1. Détruire par le feu les plantes attaquées.

2. Ramasser et détruire tous les débris des cultures pour éviter de les incorporer dans le sol.

3. Prélever sur des plantes saines les boutures destinées à la reproduction.

4. Exclure pendant trois ou quatre ans la culture de variétés susceptibles à la maladie, au profit de variétés résistantes. Il a été demontré, en effet, que le champignon se conserve longtemps dans le sol: des boutures provenant de plantes saines et cultivées dans la terre contaminée de pots où l'on avait, pendant deux ans, cultivé des plantes malades, furent attaquées par la maladie; d'autre part, des boutures saines prélevées tous les ans dans une région non contaminée et cultivées dans les champs infestés, s'attaquent par la maladie.

RÉSUMÉ

1. Description des symptômes d'une nouvelle trachéomycose du chrysanthème, causée par le *Cephalosporium* Corda, notamment par une nouvelle espèce de ce parasite. Les symptômes décrits sont: une chlorose des feuilles qui finissent par se dessécher, l'apparition sur la tige de nécroses linéaires longitudinales d'une rose qui tourne plus tard en brun rouge et, une décoloration rose des vaisseaux qui contiennent des hyphes et des spores du parasite.

2. Exposé des expériences qui ont démontré le pouvoir pathogène du *Cephalosporium* isolé.

3. Description des caractéristiques de la culture du parasite sur un milieu nutritif de jus de pommes de terre gélosé additionné du glucose, culture qui se présente sous deux formes, l'une de couleur

blanche rosée, l'autre de couleur grise; morphologie des organes du champignon.

4. Comparaison de la culture du champignon et de ses caractères morphologiques avec des données relatives aux espèces décrites jusqu'à présent, comparaison aboutissant à la conclusion qu'il s'agit d'une espèce nouvelle recevant le nom de *Cephalosporium chrysanthemi* n. sp.

5. Expériences sur la susceptibilité de diverses variétés de chrysanthème à la maladie. Résultat constaté: deux variétés susceptibles parmi les variétés examinées, la variété tardive appelée «Krémaki tardif» et la variété dite «Boule de neige».

6. Etude de l'influence exercée par la température sur la croissance du champignon: développement optimum à 25-27° C, satisfaisant entre 15 et 25° C. Il en ressort que le *C. chrysanthemi* est un champignon de hautes températures pouvant occasionner des dégâts surtout en été et accessoirement au printemps et à l'automne.

7. Recommandation d'un certain nombre de mesures destinées à combattre le mal, soit: destruction des plantes malades et des débris des cultures, utilsation de boutures prélevées sur des plantes saines et, enfin, étant donné que le champignon peut vivre assez longtemps dans le sol, assolement pendant trois ou quatre ans.

BIBLIOGRAPHIE

1. Allington W.B. et Chamberlain D.W., 1948. — Brown stem rot of soybean. *Phytopath.*, **38** : 793-802.

2. Bruehl G.W., 1957. — Cephalosporium stripe disease of wheat. *Phytopath.*, **47** : 641-649.

3. Buchanan R.E., 1911. — Morphology of the genus Cephalosporium, with description of a new species and a variety. *Mycologia*, **3** : 170-174.

4. Crandall B.S., 1945. — A new species of Cephalosporium causing persimon wilt. *Mycologia*, **37** : 495-498.

5. Christensen C.M., 1937. — Cephalosporium canker of balsam fir. *Phytopath.*, **27** : 788-791.

6. Denyer W.B.G., 1953. — Cephalosporium canker of western hemlock. *Can. J. Botany*, **31** : 361-366.

7. Linn M.B., 1940. — Cephalosporium leaf spot of two aroids. *Phytopath.*, **30** : 968-972.

8. Linn M.B., 1942. — Cephalosporium leaf-spot of dieffenbachia. *Phytopath.*, **32** : 172-175.

9. Nisikado Y., Matsumoto H. et Yamauti K., 1934. — Studies on a new Ce-

phalosporium which causes the stripe disease of wheat. *Ber. Ohara Inst. Landw. Forsch.*, **6** : 275-306. (R.A.M., **13** : 623-624, 1934).

10. Rabenhorst L., 1907.— Kryptogamen - Flora, **8** : 107.
11. Reddy C.S. et Holbert J.R., 1924.— The black - bundle disease of corn. *Jour. Agr. Res* , **27** : 177-206.
12. Ruehle G.D., 1931.— New apple - rot fungi from Washington. *Phytopath*, **21** : 1141-1152.
13. Saccardo P.A., 1886.—Sylloge Fungorum, **4** : 56 - 58,
14. — 1892 » » **10** : 523
15. — 1895 » » **11** : 591
16. — 1899 » » **14** : 1043-1044
17. Saccardo P.A., 1906 Sylloge Fungorum, **18** : 510
18. — 1913 » » **22** : 1252
19. — 1831 » » **25** : 651-652.
20. Smith M.A. et Ramsey G.B., 1951.— Brown - spot disease of celery. *Bot. Gazette*, **112** : 393-400.
21. Tims E.C. et Olive L.S., 1948.— Two interesting leaf spots of fig. *Phytopath.*, **38** : 707-715.
22. Van Beyma Thoe Kingma F.E., 1933.— Beschreibung einiger neuer Pilzarten aus dem Centraalbureau voor Schimmelcultures II - Baarn (Holland). *Zentralbl. für Bakt.* Ab. **2**, **89**, 8 - 12, 236-243. (R.A.M. 13 : 333, 1934).

Ann. Inst. Phytopath. Benaki, N.S. 3: 60-64, 1960.

THE BACTERIUM *PSEUDOMONAS SESAMI* MALKOFF IN GREECE*

by
D. G. ZACHOS and C. G. PANAGOPOULOS

The sesame bacteriosis caused by *Pseudomonas sesami* Malkoff, has been observed and studied first by Malkoff in Bulgaria in 1903-1906 (5, 6). Later on, according to the literature reviewed by Nakata and Elliott (7,4) the same disease was reported in India, Japan, Korea, Tanganyika, Texas and Brazil. It has been also found in Italian Somaliland by Curzi (2) and in Turkey by Bremer et al (1). To our knowledge the disease has not been found until now in any other European country except Bulgaria.

In the summer of 1959 we had the opportunity to observe the disease for the first time in different districts of Greece where favoured by the weather conditions it damaged seriously the sesame crop.

SYMPTOMS

The symptoms of the disease were studied both in speciments sent from the affected fields and in plants artificially inoculated with the isolated bacterium.

The bacteriosis affects all the aerial parts of the plant attacking leaves, stem and capsules.

Primary infections of the leaves appear as water or oily, angular spots of yellow-green colour, delimited by the veins, up to 0,5 centimeters long (Fig. 1). In various parts of the spot, usually at the central part of it the colour changes to dark brown turning later to black (Fig. 2). If the humidity is high, a drop-like exudate full of bacteria appears on the under side of the spot. Many lesions coalescing may cover larger parts of the leaf blade.

* Received November 14, 1959.

Fig. 1. Sesame leaves artificially inoculated showing spots caused by *Ps. sesami*.

Fig. 2. Sesame leaves showing angular dark coloured spots produced by *Ps. sesami* in natural infections.

Fig. 3. Long lesions on stem caused by *Ps. sesami*. In their central part the bacterial exudate is distinguished like gum drop. The dried petiole is left on the stem after dropping of the leaf blade. Between the two lesions there is a spot due to *Alternaria sp.*

Fig. 4. Longitudinal section of the stem showing red discolouration of the vascular bundles.

Long lesions, slightly depressed in the center, of a brown to black colour occur on the stem (Fig. 3). They commonly start at the site of insertion of the petioles and may cause the withering of the whole leaf which drops leaving the petiole on the stem. In the center of the lesion a bacterial exudate appears which, when dried, looks like gum excretion (Fig. 3). The lesion girdling sometimes the stem, leads to the colapse of the upper part of the plant, especially of the top of it, where the stem is thinner. Longitudinal sections through the stem reveal a red discolouration of the vascular bundles and the pith, which are full of bacteria (Fig. 4).

Primary infections of the capsules appear as water spots of irregular shape and varying size. Later on, they become slightly depressed and light brown in colour (Fig. 5). They may cover large parts of the surface of the capsule and often occur in the upper edge of it, causing the disjunction of the carpels at that point.

ETIOLOGY

A drop of the bacterial exudate was transferred with a sterile pipette into a tube of sterile water. From this suspension, by successive dilutions, Petri dishes of meat-infusion agar were poured and incubated at 27° C. Two days later the colonies appeared and cultures of the parasite were obtained.

In order to ascertain that the above described symptoms were caused by the isolated bacterium, sesame plants grown in pots were artificially inoculated. A suspension of a two days old culture was prepared and the inoculation was done both by spraying the plants and by depositing small drops on the two surfaces of the leaves. Within 8 days, characteristic spots were produced in both cases. During this period the temperature fluctuated between 20 and 30° C. In another case, stems inoculated by puncturing showed lesions as previously described.

The isolated bacterium is Gram negative, aerobe, motile by 2-5 polar flagella (Fig. 6) and rodshaped, measuring 1, 5—3, 5×0, 6—0,8 μ.

In Petri dishes containing meat-infusion agar the colonies appear within 30 hours at 28° C. Within 48 hours these are white, round and flat with a small elevation in the center, measuring 1 - 1,5 millimeters. They are rather irregular with undulate to lobate margin (Fig. 7). Their internal structure is reticulate. Colonies 3 - 4 days old measure 2 millimeters and examined under the microscope show wrinkles which begin near the center and end at the margin.

On meat-infusion agar slope the colonies are lobate (Fig. 8), smooth, glistening, whitish in colour and one can observe a very weak yellow-green fluorescence.

On meat-infusion agar stab the bacterium grows only on the surface of the medium.

On gelatin stab there is a rapid infundibuliform liquefaction.

Meat broth becomes turbid in 3 days.

On sterilized potato-plugs an irregular colony is formed which appears pale yellow in the beginning becoming honey coloured later.

The milk is cleared without coagulation in about 10 days.

Litmus milk changes from mauve to blue within 4 days. Nine days after inoculation it becomes straw coloured in the bottom of the tube and light mauve in the upper part of it. After a fortnight it turns again blue.

The bacterium does not produce hydrogen sulphide[1] or indol[1], and nitrates[2] are not reduced to nitrites by it. On the contrary, there is ammonia production.

The fermentation of carbon compounds by the bacterium within 30 days is given in table I. The various carbohydrates were incorporated in a synthetic medium (9) as 1 % solutions except starch which was added to the meat-infusion agar in a 0,2 % concentration.

TABLE I.

Fermentation of carbon compounds by *Pseudomonas sesami* Malkoff.

Indicator bromcresol purple									Indicator bromthymol blue			
Xylose	Dextrose	Mannose	Sucrose	Lactose	Maltose	Glycerol	Salicin	Purple — Lactose-Agar[1]	Sucrose	Lactose	Maltose	Starch hydrolysis
+	+	+	+	—	—	+	—	—	+	—	—	—

[1] According to Wormald cited by Dowson (3),

+ denotes production of acid.

— denotes no production of acid. In the case of starch, negative reaction.

[1] Medium : peptone solution 10 %.

[2] Medium : nitrate peptone water.

Fig. 5. Sesame capsules spotted by *Ps. sesami.*

Fig. 6. Flagella of the bacterium *Ps. sesami* stained by Gray's method.

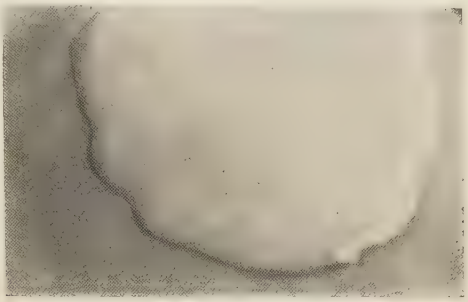


Fig. 7. A four-day old colony of the bacterium *Ps. sesami* in Petri dish exhibiting a lobate margin.

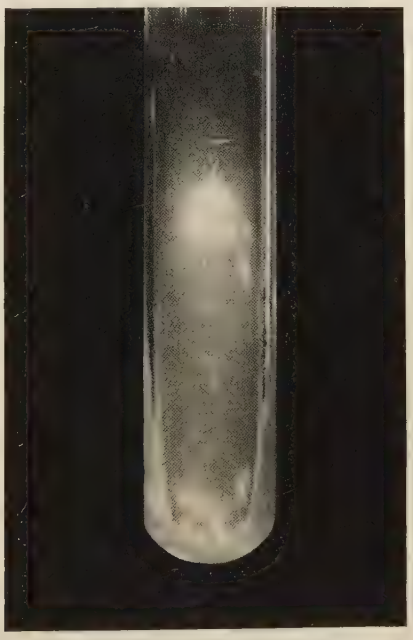


Fig. 8. A twelve-day old colony of *Ps. sesami* in meat-infusion agar slope showing a lobate form.

The cultural characteristics of the bacterium as well as its biochemical reactions are in agreement with the description given by Nakata (7). In the case of sucrose and glycerol, incorporated in peptone solution, the above author did not find acid production within 7 days where-as in our case the bacterium fermented the above carbohydrates, which were incorporated in the synthetic medium used, after the 7th day.

CONDITIONS OF THE DEVELOPMENT OF THE DISEASE

The disease was observed early in July in Dourouti Station of Plant Breeding in the region of Ioannina. At the same time, the experimental fields of the Arta Agricultural Service and the fields of the village Aghios Spyridon, covering an area of about 1.400 stremmas [1] were severely damaged by the disease. Yield reduction was evaluated in 30-80 %. The disease occurred in the same time in the close region of Preveza where it assumed considerable economic importance during August.

This bacteriosis has not been noticed before in Greece but it is presumed that it must have occurred in previous years. In fact, in 1955 sesame speciments coming from the district of Rodopi examined at Benaki. Phytopathological Institute showed spots resembling those produced by *Ps. sesami*. The plants, however, were not suitable for an accurate diagnosis (8).

The outbreak of the disease in 1959 was due to the abnormal weather conditions during the summer, which normally is hot and dry. On the contrary, in that year the relatively low temperature and the rainy weather that prevailed during June, July and August greatly favoured the development of the disease. Similar climatic conditions determined the occurrence of it in the region of Copaïs where we found it combined with the attack of *Alternaria sp.* on sesame.

SUMMARY

1. The bacterial disease of sesame caused by *Pseudomonas sesami* Malkoff is reported for the first time in Greece.

2. A detailed description of the symptoms of the disease is given. The bacrerium attacks all the aerial parts of the plant producing dark coloured lesions on the leaves, stem and capsules.

[1] one stremma is 1000 m^2

3. A general description of the isolated bacterium is given including its characteristics in various culture media and its biochemical reactions.

4. The development of the disease was favoured by the abnormal weather conditions of the summer of 1959 which was unusually cool and rainy.

LITERATURE CITED

1. Bremer H., Ismen H., Karel G., Özkan H. and Özkan M., 1947.—Beiträge zur Kenntnis der parasitischen Pilze der Türkei I. *Rev. Fac. Sci. Univ. Istanbul, Ser. B* **13** : 122-172.

2. Curzi M. 1934.—De fungis et morbis africanis. II. De Pseudomonas plantarum parasitis Somaliae. *Boll. Staz. Pat. Veg.* N.S. **14** : 173-184.

3. Dowson W. J. 1957.—Plant Diseases due to Bacteria. Cambridge, University Press, pp. 41-42.

4. Elliott C. 1951.— Manual of Bacterial Plant Pathogens. Chronica Botanica C° , Waltham, Mass. U.S.A. p. 87.

5. Malkoff K. 1903.—Eine Bakterienkrankheit auf Sesamum orientale in Bulgarien. *Centlalbl. f. Bakt.* **11** : 333-336.

6. Malkoff K. 1906.— Weitere Untersuchungen über die bakterienkrankheit und Sesamum orientale. *Centralbl. f. Bakt.* **16** : 664-666.

7. Nakata K. 1930.— Comparative Studies of Bact. sesami with Bact. solanacearum and Bact. sesamicola. *Ann. Phytopath. Soc. Japan*, **2** : 229-243.

8. Sarejanni J. A., Démétriadès S. D., Zachos D. G. and Papaïoannou A. I. 1956.— Rapport sommaire sur les principales maladies des plantes cultivées, observées en Grèce au cours de l'année 1955. *Ann. Inst. Phytopath. Benaki année* **10** : 3-8.

9. Society of American Bacteriologists 1957.— Manual of Microbiological Methods. McGraw Hill Book C° Inc., New York, Torondo, London, p. 53-57.

Ann. Inst. Phytopath. Benaki, N.S., 3: 65-78, 1960.

RESEARCH ON THE CONTROL OF *SCLEROTIUM ROLFSII* SACC. WITH FUNGICIDES *

by

S. G. GEORGOPOULOS and C. C. THANASOULOPOULOS **

Sclerotium rolfsii Sacc. is a common parasite appearing in many cultivated plants in Greece particularly in soils of low calcium content. During the last three years it has been repeatedly found on potato, tomato, peper, eggplant, beet, bean, cotton, artichoke, cabbage, watermelon, young citrus trees, and sunflower.

The senior author has isolated the fungus from young olive trees of a nursery, from sesame, and from 2-3 years old grape vines originating from rootings. In the above cases the plants presented a rot at the collar, similar to that caused by *S. rolfsii* on the woody stems of other plants. In the case of grape vines, specimens were received from three different areas affected by the disease which had caused a loss of about 10 per cent.

The Review of Applied Mycology and Weber (20) have not included olive tree, sesame and grapevine among the hosts of *S. rolfsii* and this report might be considered as the first record of the fungus attacking the above plants. It should be stated here that no pathogenetic tests have been carried out so far; however, since the fungus is an omnivorous parasite and since no other pathogen was isolated from the diseased plants there can be little doubt that *S. rolfsii* was the causal organism in these cases.

In Greece, *S. rolfsii* is most destructive on vegetables, especially tomatoes. In severe cases nearly all plants are killed by the end of summer.

Several chemicals have been tested by a number of workers, with a view to reduce the southern blight organism. The main objective for

* Received February 5, 1960.

** Phytopathological Station, Patras, Greece.

most of the methods applied, was to have the fungus killed by treating the whole infested area of a field. However, since the use of injectors or large quantities of water is usually a prerequisite, these methods cannot be applied on a commercial scale in Greece. To protect plants, Greek vegetable grower needs a cheap and easy-to- apply fungicide before planting or, preferably, immediately after the disease has first appeared in an infested field. In recent years promising results have been obtained (2, 6, 19, 21, 22) in decreasing and or delaying the destruction of the plants by timely application of chemicals around the base of the stem or along the row.

Studies on the effect of some commercially available fungicides, appropriate for post-planting application against the fungus *in vitro* and in the field were undertaken in 1959 at the Patras Phytopathological Station. The results of such research work, are presented herein.

MATERIALS AND METHODS

The isolate of *S. rolfsii* used was obtained from a diseased tomato plant near Patras and was preserved on potato dextrose agar. The same medium was used for the production of sclerotia. For the laboratory-tests, soil was taken from a tomato field ; it contained 15 per cent of calcium and was air-dried and sterilised before use.

The following fungicides were tested: Orthocide 50 (captan 50%), Tuzet [tetramethylthiuramdisulphide 40%. zinc dimethyldithiocarbamate 20%, bis (dimethylthiocarbamylthio) methylarsine 20%], Terraclor 75 W. P. (pentachloronitrobenzene 75%), Semesan (hydroxymercurichlorophenol 30%), and Cryptonol (oxyquinoline sulfate 98%). Only after being subjected to laboratory tests *in vitro* the chemicals were applied in field experiments, where one concentration of each chemical was used. Several concentrations were tested in laboratory work. However, presented herein, are particulars only of a number of them covering the range tested. Details regarding the methods according to which each fungicide was used will be given at a later date.

To evaluate the significance of data obtained, where necessary, analysis of the variance method was carried out. L.S.D. values thus obtained are given in this report.

LABORATORY TESTS

A. Effect on sclerotia. By incorporating the chemical in the culture medium, the effect of the test materials on the sclerotia of the fun-

gus was first studied. The following procedure was adopted in preparing the fungicide-containing plates of potato-dextrose agar: the potato-dextrose agar, slightly stronger than usual, was autoclaved in erlenmeyer flasks and cooled at about 50° C. To obtain the desired concentration a 1:4 by volume solution or suspension of the fungicide to be tested was asseptically added thereto. Sterile water, in the same proportion, was added, to the controls. Five petri dishes at each concentration and five containing the fungicide-free medium were immediately poured at about 2° C so that the medium solidified before there was much settling of the fungicide in case it was not soluble. Ten sclerotia were then transferred to each dish.[1]. These were incubated at 32° C; germination after 2, 3 and 4 days was recorded. To determine whether the sclerotia which had not germinated after 4 days were still viable, they were transferred into potato-dextrose agar and

TABLE I

Effect of fungicides incorporated in the culture medium on sclerotia of *Sclerotium rolfsii*.

Fungicide	Percentage of concentration	Percentage of germinated sclerotia.			Percentage of not germinated sclerotia after 4 days.	
		After 2 days	After 3 days	After 4 days	Viable	Dead
Orthocide 50	0,1	50	95	100	—	—
	0,2	30	95	100	—	—
	0,4	10	55	83	17	0
Terraclor 75 W.P.	0,4	0	100	100	—	—
Tuzet	0,05	13	77	100	—	—
	0,1	0	6	14	0	86
	0,2	0	1	2	0	98
	0,4	0	0	0	0	100
Semesan	0,05	0	0	0	0	100
Cryptonol	0,01	0	0	0	100	0
	0,02	0	0	0	0	100
Control (water)	—	80	100	100	0	0

[1] Since some of the materials, especially Tuzet and Orthocide 50, were found to become less effective with time after incorporation, it is essential not to delay inoculation of the plates.

incubated at 32° C for 5 more days. Those not germinating despite incubation, were considered as dead. Table I shows the mean percentage of germination in some of the concentrations tested.

Semesan not only prevented germination but also killed the sclerotia even at the lowest concentration (0,05%). Tuzet acted similarly at concentrations exceeding 0.1 per cent. Cryptonol was completely inhibitory with all concentrations tested though it did not kill sclerotia in concentrations below 0,02%. Orthocide 50 and Terraclor 75 W.P. were not effective. With respect to Captan, results obtained do not agree with those of Treggi (18).

To provide information as to the effect of the fungicides tested on sclerotia in the soil, the method described by Abeygunawardena and Wood (1) was employed. Fifty sclerotia were placed in each glass cylinder. Tins of smaller size were used. Two hundred and thirty, in-

TABLE II

Germination of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* following treatment (in soil) with fungicides.

Fungicide	Dose (gr.) per tin	Percentage germination of sclerotia (Mean of 4 replicates)	
		Fungicide used as a drench	Fungicide used as a dust
Orthocide 50	0,5	100	100
Terraclor 75 W.P.	0,5	100	100
Tuzet	0,1	100	0
	0,2	100	0
	0,5	89	0
Semesan	0,2	100	100
	0,5	91	91
Cryptonol	0,05	98	—
Formalin	2	0	—
Control	—	100	—

stead of 1200 gr., of soil was placed in each tin and was drenched with 100 ml. of a solution or suspension of the fungicide. Before soil was placed in the tins it had been well mixed with pulverized Orthocide 50, Tuzet, Terraclor 75 W. P., and Semesan; 100 ml. of water was later added to each tin. Treatments were replicated 4 times. In order to compare the results of this test with those obtained by Abeygunawardena and Wood (1) the soil was drenched with 100 ml. of a 2% solution of formalin (40% formaldehyde in water), in each of four

TABLE III

The effect of the fungicides on the growth of *Sclerotium rolfsii* in culture.

Fungicide	Percentage concentration	Diameter of colony [1] in mm. after 4 days.
Orthocide 50	0,1	16,0
	0,2	5,0
	0,4	4,0
Terraclor 75 W.P.	0,01	3,9
	0,1	3,2
	0,4	3,2
Tuzet	0,01	77,2
	0,02	52,6
	0,05	12,6
Control (Water)	—	76,4
L.S.D. (0.05)		18,3
(0.01)		26,0

[1] Average of 5 cultures.

other tins, which were covered and kept at a constant temperature of 26° C for 5 days. Then the sclerotia were taken and their viability measured after plating on peptone-dextrose agar plus rose bengal and streptomycine (8) to suppress the otherwise predominant bacteria, and incubating at 32° C for 4 days. Table II shows the percentage of viable sclerotia.

Despite its lethal action when incorporated in the culture medium, Semesan, when used either as a drench or a dust did not kill sclerotia in the soil. Terraclor 75 W.P., Orthocide 50, and Cryptonol were also

ineffective. Tuzet killed sclerotia completely when mixed with the soil as a dust but failed to do so when added as 0.5 per cent suspension in water. In the latter case, the chemical was apparently retained by the upper soil layer, and this may account for the difference.

B. Effect on growth. The effect of materials tested, on the growth of the fungus both in pure culture and in soil was investigated in the laboratory as described below.

a. In pure culture. The same procedure was followed in preparing the plates of potato-dextrose agar containing the chemical in concentrations which did not prevent germination of sclerotia in the first test[1]. A sclerotium was placed in the center of each dish. The dishes were then incubated at 32° C and the growth of the mycelium recorded daily. The mean diameter of the colony at various concentrations of each fungicide after 4 days incubation is shown on table III. Representative dishes were photographed (Fig. 1).

The presence of Orthocide 50 or Tuzet in the substratum seriously reduced the rate of growth but had no effect on the appearance of the colony. On the other hand, colonies grown, on medium containing Terraclor looked as if they belonged to a quite different species. They were crusty in appearance with an irregular surface and margin and rather creamy in colour. In microscopic examination the hyphae appeared less thick, more irregular and more branched compared to those growing in the control plates. Clamp connections were never found on mycelium growing on Terraclor containing medium. In addition, these cultures did not produce sclerotia. However irregular mycelium taken from Terraclor-containing plates gave regular colonies after it has been transferred on potato dextrose agar.

Terraclor 75 W.P. was equally inhibitory at concentrations between 0.01 and 0.4 per cent. Be it noted, however, that with a material as poorly soluble as Terraclor, the differences between two agars containing 0,01 and 0.4 per cent respectively may not be of much importance for the fungus. Semesan, Cryptonol and Tuzet, were not used in this test at concentrations above 0.05 per cent as they would prevent germination of sclerotia (see Table I).

b. In the soil. Pieces of tomato stems about 5 cm. long were autoclaved in culture tubes, inoculated with *S. rolfsii*, and incubated

[1] It was essential for this test that dishes be poured immediately and at as low a temperature as possible.

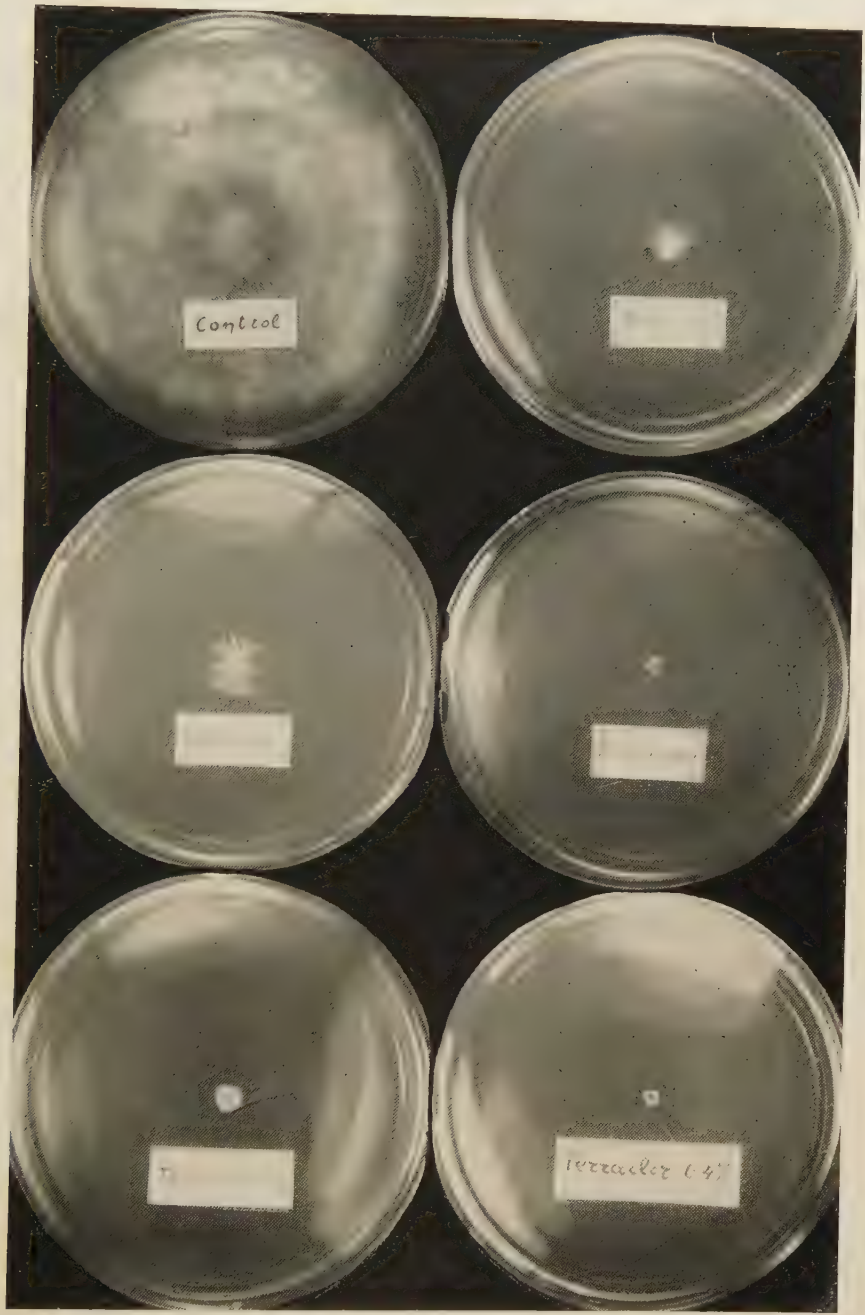


Fig. 1. Four-day-old cultures of *Sclerotium rolfsii* on potato-dextrose agar containing fungicides at the indicated concentrations.

until they were almost entirely covered with mycelium. Small crystallising disks 4 cm. deep and 2 cm. in diameter each containing 100 gr. of soil were sterilised. Then at about the middle of each disk one of the mycelium bearing stem pieces was placed with sterilised non-inoculated stem pieces of the same length on either side, at a distance of about 1.5 cm. (Fig. 2). Two hundred more gr. of sterilised soil were added and the whole was wetted with 40 ml. of a solution or suspension of the fungicide. Orthocide 50, Tuzet, and Terraclor 75 W.P. were used as a dust inasmuch as they would hardly reach the stems if used as suspensions. In this case the chemical well mixed with the 200 gr. of soil, was placed in the disk where 40 ml. of water were further added. Each treatment was replicated for at least ten times.

The disks were then covered and kept in darkness at a constant temperature of 26° C for a week. The effect of the chemicals was measured by the number of stem pieces not reached and colonised by the fungus. Pieces covered with mycelium were not, of course, counted. The results of this experiment are tabulated in table IV.

TABLE IV

Effect of fungicides on the growth of *Sclerotium rolfsii* in the soil.

Fungicide	Dose (gr.) per disk	Percentage of stem pieces not reached by the mycelium	
		Fungicide applied as a solution or suspension in water	Fungicide applied as a dust
Semesan	0,2	100	—
Terraclor 75 W.P.	0,2	35	90
Tuzet	0,2	25	80
Cryptonol	0,02	35	—
Orthocide 50	0,2	30	60
Control (water)	—	10	10

Though provided with most favourable conditions the fungus failed to reach the non-inoculated stem pieces in the presence of Semesan. Satisfactory control was also obtained through the use of Ter-

raclor but only when the latter was mixed with the soil as a dust. In the case of Semesan no viable mycelium was found in most of the disks.

FIELD EXPERIMENTS

The main objective for the field tests conducted in 1959 was to obtain data concerning the effect of the fungicides on the growth of *S. rolfsii* under field conditions. The number of non-attacked tomato plants, despite the presence of fungus near their base, was regarded as a basis to measure this effect.

In the first experiment, a group of about 10 sclerotia were buried at a distance of 1 - 2 cm. from the base of each tomato plant or at a depth of about 10 cm.. Details are not given, for no attack from *S. rolfsii* was noticed in the plots though temperature and moisture conditions were favorable. Insufficient number of sclerotia (10) may rather account for such a result

The experimental field used, about 1000 m^2, for the second test, was divided into 4 blocks of 7 plots each. It was thus possible for treatments to be replicated 4 times.

Each plot consisted of 2 rows, spaced 0.8 m. apart and was separated from adjoining plots by beds 1.2 m. wide and 0.3 m. high. Ditches between the rows of each plot but never between adjoining plots were dug for irrigation purposes. Thirty five tomato plants of a local variety were planted in each plot.

The soil was artificially inoculated at the time the fruit was almost mature. Inoculum consisted of pieces of tomato stems (same as those used in the laboratory tests) covered with mycelium of *S. rolfsii*. One stem piece was placed at a distance of 1-2 cm. from the base of each plant in a depth of about 10 cm.

The fungicides were applied a few hours later, before the mycelium had time to grow further considerably. Fungicide solutions or suspensions were applied around the base of the plants by means of an ordinary knapsack sprayer whose nozzle breaker disk had been removed to give a straight liquid stream. The liquid thus penetrated the soil to a considerable depth while the fungicide was adequately mixed with the soil surrounding the base of the stem. The dosage used was 0.5 per cent for Orthocide 50, Tuzet, Terraclor 75 W.P., and Semesan and 0.05 per cent for Cryptonol. About 250 ml. of liquid was added around each plant.

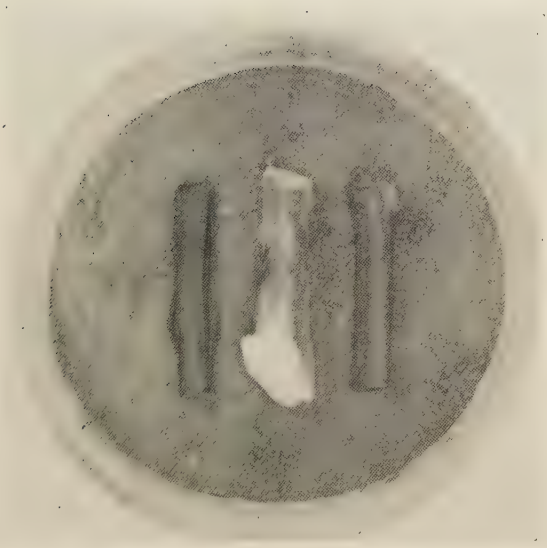


Fig. 2. Tomato-stem pieces placed in the crystalizing disk to determine the effect of the chemicals on the growth of *Sclerotium rolfsii* in soil.

In one series of controls the soil remained uninoculated; in a second series the standard inoculum was added. All check plants were watered each with 250 ml. of water in the same way.

More moisture was provided by furrow irrigating all plots two days later.

Within two weeks following treatment as above, southern blight killed almost 25 per cent of the plants in the check plots.

In some of the treated plots a few plants were also killed in the same period of time. Probably because of the sudden and unusually early fall of temperature at the beginning of September 1959 no other plants died. A month later, however, when living plants were pooled and examined, the presence of fungus having caused visible injuries at the collar was evident in a great number of cases. It is almost certain that if weather conditions had remained unchanged most of the attacked stems would have been girdled and the plants died. It seemed desirable. therefore, to evaluate the effectiveness of the chemicals by counting the plants which had not at all been attacked.

TABLE V

Protection of tomato plants against *Sclerotium rolfsii* by application of fungicides around the base of the stem.

Fungicide	Percentage concentration	Mean percentage of not attacked plants	Mean percentage of attacked plants	
			not killed	killed
Terraclor 75 W.P.	0,5	91,6	8,4	0
Semesan	0,5	90,0	10,0	0
Orthocide 50	0,5	75,4	23,1	1,5
Tuzet	0,5	72,3	26,2	1,5
Cryptonol	0,05	52,3	40,7	7,0
None (inoculum added)	—	23,7	51,8	24,5
L.S.D. (0.05)		14,6	—	11,2
(0.01)		20,2	—	15,7

Table V clearly shows that Terraclor 75 W.P. and Semesan were significantly more effective in preventing the fungus from reaching and damaging the plants than the other chemicals tested.

Orthocide 50 and Tuzet did not present any significant difference. Cryptonol was found to be inferior to all the other fungicides tested. On the one per cent level, however, a significant difference was recorded between the mean percentage of not attacked plants in the plots treated with Cryptonol and those in the check plots. On the other hand, the number of plants which died during the first two weeks was significantly greater in the check plots than in the plots treated with chemical. *S. rolfsii* did not appear to attack the plants in the non-inoculated plots.

Although applied as suspension in water the insoluble (or nearly so) materials provided highly significant protection for the plants over the untreated check. Presumably, retention of the chemical by the upper soil layer was minimised by the way the liquid had been applied around the stem base.

It should be stated here that the evaluation of the five materials tested in this experimental work was based only on the degree of temporary protection which they would give to the plants. Had the fungus been present long before the application of chemicals or had naturaly infested soil been used, the pathogen might have caused some loss before treatment. On the other hand, additional treatments might have been necessary if weather conditions had, for a longer period, remained favorable for the fungus.

The results of the test as illustrated above, are encouraging, especially with respect to Terraclor and Semesan, because most of the damage caused by *S. rolfsii* is effected in a comparatively short period of time and very often even delaying of the killing of the plants for some days is valuable. At the rate of Terraclor 75 W.P. used in this experiment the cost of the control is not high and therefore it can be recommended for application on a commercial scale in Greece. Besides, the laboratory tests presented above show that Semesan may be found equally effective at smaller dosages.

APPEARANCE OF A TERRACLOR-RESISTANT STRAIN

In studying the effect of the chemicals on the growth of *S. rolfsii in vitro*, one sclerotium of the fungus was placed in the center of each of five dishes containing potato-dextrose agar in which Terraclor 75 W.P. had been incorporated. All the sclerotia had been taken from the same culture.

After incubation at 32° C for four days colonies were equally

Fig. 3. Top row, seven-day-old cultures on peptone-dextrose agar; middle row, four-day-old cultures on potato-dextrose agar; bottom row, four-day-old cultures on potato-dextrose agar containing 0,4 per cent Terraclor 75 W.P.

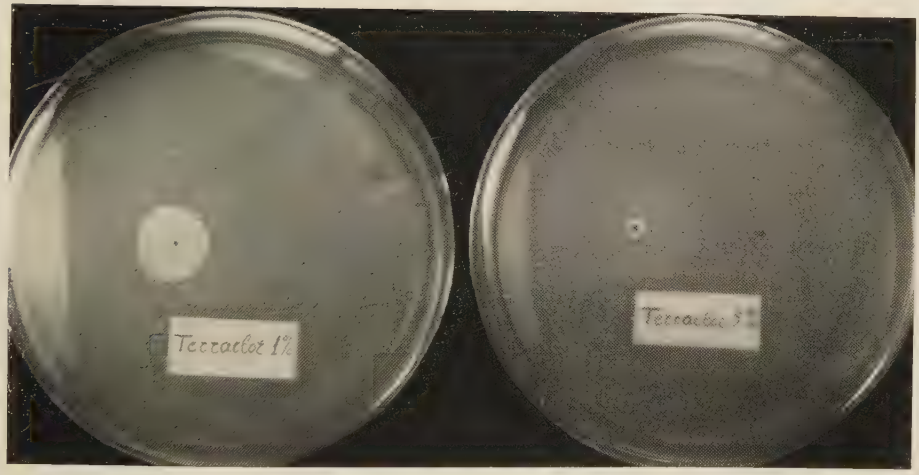


Fig. 4. Four-day-old cultures. Of the two sclerotia in each disk the one on the left belongs to the resistant strain.

small about 5 mm. in diameter and looked like all other colonies on Terraclor containing potato-dextrose agar. In one of the dishes a new growth of regular mycelium of *S. rolfsii* was observed at a certain point near the edge of the colony on the next day. Despite the constant presence of Terraclor this growth spread funlike up to the periphery of the dish and formed normal sclerotia.

The new isolate of *S. rolfsii* thus produced, developed normally on agars containing up to 0.4 per cent Terraclor 75 W.P., its rate of growth being almost equal to that of the same isolate where no fungicide was present (Fig. 3). Under the same conditions formation of sclerotia was not prevented. No sclerotia were produced at higher concentrations of Terraclor and growth was considerably retarded, although much faster than that of the parent isolate susceptible to Terraclor (Fig. 4). The resistant isolate retained its ability to grow in the presence of PCNB, even after repeated transfers on fungicide free medium; it may thus be considered a Terraclor-resistant strain.

Littauer and Gutter (11) similarly found that after prolonged action of diphenyl vapour, *Diplodia natalensis* P. E. sometimes gives new strains resistant to diphenyl. Mckee (14) also observed that tetrachloronitrobenzene produces mutation in *Fusarium caeruleum* (Lib) Sacc. and the new strains thus produced were resistant to tetrachloronitrobenzene. Some other cases of fungi adapted for growth in the presence of fungicides are mentioned by Horsfall (7) while Parry and Wood (15, 16, 17) recently investigated the adaptation of *Botrytis cinerea* Pers. to some chemicals.

The Terraclor-resistant strain of *S. rolfsii* appeared after the original isolate had grown for only 5 days in the presence of PCNB. No other resistant isolates were obtained though some twenty cultures of the parent isolate on media containing Terraclor 75 W.P. at different concentrations were kept at 32° C for more than 15 days. Further, attempts to increase resistance by growing the resistant isolate in the presence of Terraclor were unsuccesful.

Besides resistance to Terraclor, the new strain was different from the parent strain as far as its other characteristics are concerned. For instance, its rate of growth on fungicide free media was slower than that of the parent strain while it produced sclerotia somewhat earlier, mainly towards the center of the dish. With respect to resistance to Semesan, Cryptonol, Orthocide 50, and Tuzet no differences were observed. No information on the pathogenicity of the Terraclor-resistant strain has been obtained sofar.

In a review of the literature reports of the existence of strains of *S. rolfsii* resistant to PCNB were not found. Parry and Wood (15) state that some fungi often produce strains resistant to chlorinated nitrobenzenes without referring to particular species or chemicals. In case however, the fungus grows resistant to Terraclor in the field, the value of this meterial for the control of southern blight will be adversely affected.

SUMMARY

1. Following experiments carried out at the Patras Phytopathological Station *Sclerotium rolfsii* Sacc. has been isolated, from young olive trees, sesame, and young vine plants, which seem to be hitherto unreported hosts of this pathogen.

2. A number of fungicides were incorporated in the culture medium and sclerotia of the fungus plated. Semesan, Cryptonol, and Tuzet killed sclerotia completely at concentrations above 0.05, 0.02 and 0.1 per cent respectively. Terraclor 75 W.P. and Orthocide 50 did not prevent germination of sclerotia but retarded growth considerably.

3. Sclerotia or pieces of tomato stems bearing mycelium were buried in soil and fungicides were added to the surface as a drench. Semesan did not kill sclerotia but prevented growth and in most cases killed mycelium. The other chemicals tested (excepting formalin) were less effective when used as a drench. In an other series of tests the insoluble materials were used in the form of dry dust well mixed with the soil. Only Tuzet killed sclerotia. Terraclor 75 W.P. was most effective in retarding growth, followed by Tuzet and Orthocide 50.

4. In field tests for the control of southern blight of tomatoes in artificially inoculated soil, Terraclor 75 W P. and Semesan were highly efficient in protecting plants when applied around the base of the stem by means of an ordinary sprayer whose nozzle breaker disk had been removed. Orthocide 50, Tuzet and Cryptonol gave also some sort of control.

5. On potato-dextrose agar containing 0.02% Terraclor 75 W. P. a Terraclor-resistant strain was produced by the parent isolate which was used in all tests. The pathogenicity of this strain was not tested. On artificial fungicide-free media the new strain seems to be less virulent than the parent strain.

LITERATURE CITED

1. ABEYGUNAWARDENA D. V. W. and WOOD R. K. S., 1957 — Effect of certain fungicides on Sclerotium rolfsii in the soil. *Phytopath.*, **47** : 607 - 609.
2. AYCOCK R., 1959 - Soil treatment for control of Sclerotium rolfsii in Dutch iris. *Plant Dis. Peptr*, **43** : 283 - 286.
3. DAVEY A. E. and LEACH L. D., 1941 — Experiments with fungicides for use against Sclerotium rolfsii Sacc. in soils. *Hilgardia*, **13** : 523 - 547.
4. GOODFREY G. H. and YOUNG P. A., 1943 — Soil fumigation for plant disease control. *Texas Agr. Exp. St., Bull.* 628.
5. HAASIS F. A., 1952 — Soil fumigation with chlorobromopropene. *Plant Dis. Reptr*, **36** : 475-478, (R.A.M., 32 : 433, 1953).
6. HARRISON A. L. and WATKINS G. M., 1958 — Terraclor for the control of southern blight of peanuts. *Phytopath.*, **48** : 343.
7. HORSFALL J. G., 1956 – Principles of Fungicidal Action, pp. 91-98. Chronica Botanica.
8. JOHNSON L. F., CURL E. A., BOND J. H., and FRIBOURG H. A., 1959 — Methods for Studying Soil Microflora. Plant Disease relationships, p. 145. Burgess Publ. Co, Minn.
9. KREUTZER W. A. and MONTAGNE T. W., 1950 — Chlorobromopropene a potential fungicidal soil fumigant. *Phytopath.*, **40** : 16.
10. LEACH L. D. and DAVEY A. E., 1938 — Determining the sclerotial population of Sclerotium rolfsii by soil analysis and predicting losses of Sugar Beets on the basis of the analysis. *Jour. Arg. Res.*, **56** : 619-631.
11. LITTAUER F. and GUTTER Y., 1953 — Diphenyl—resistant strains of Diplodia. *Palest. Jour. Bot. R. Ser.* **8** : 185-189.
12. MARTIN H., 1957 — Guide to the chemicals used in crop protection. Canada Dpt. of Agriculture (Third Edition).
13. MARTIN W. J., 1953 — Circular spot, a disease of sweet potato roots. *Phytopath* , **43** : 432-433.
14. MCKEE R. K., 1951 — Mutations appearing in Fusarium caeruleum cultures treated with tetrachloronitrobenzene. *Nature*, **167** : 611 (R.A.M., 30 : 385).
15. PARRY K. E. and WOOD R. K. S., 1958 — The adaptation of fungi to fungicides : Adaptation to copper and mercury salts. *Ann. Appl. Biol.*, **46** : 446-456.
16. PARRY K. E. and WOOD R. K. S., 1959 — The adaptation of fungi to fungicides : Adaptation to captan. *Ann. Appl. Biol.*, **47** : 1-9.
17. PARRY K. E. and WOOD R. K. S., 1959 — The adaptation of fungi to fungi-

cides: Adaptation to Thiram, Ziram, Ferbam, Nabam and Zineb. *Ann. Appl. Biol.*, **47**: 10-16.

18. Treggi G., 1956 — Attachi di Sclerotium rolfsii Sacc. su colture di pomodoro e di peperone. *Ann. Sper. Agr., N.S.*, **10**: 1553-1574.

19. Watkins G. M., Mohr H. C., and Young P. A., 1958— Control of southern blight in tomatoes in northeast Texas. *Phytopath.*, **48**: 346.

20. Weber G. F., 1931 — Blight of carrots by Sclerotium rolfsii with geographic distribution and host range of the fungus. *Phytopath*, **21**: 1129-1140.

21. Young P. A., 1956 — Chemical tests to control southern blight of tomato. *Texas Agr. Exp. St*, *Progress Report* 1893.

22. Young P. A., 1957 — Experiments to control southern blight of tomato at Yacksonville. *Texas Agr St.*, *Progress Report* 985.

Ann. Inst. Phytopath. Benaki, N.S., 3 : 79-82, 1960

SUR LA POSSIBILITÉ D'EMPÊCHER LA FRUCTIFICATION DES OLIVIERS SAUVAGES PAR L'EMPLOI DE PRODUITS PHYTOHORMONIQUES *

par

S. D. DÉMÉTRIADÈS, C. D. HOLEVAS, et C. D. SOULTANOPOULOS

Dans le cadre de la lutte contre le Dacus de l'olive il y aurait sans doute beaucoup à gagner si l' on parvenait à détruire les foyers formés par cet insecte dans les endroits où l'application d'insecticides n'a pas lieu. Les oliviers sauvages qui poussent dans les oliveraies, ou en bordure de celles-ci, constituent des foyers de ce genre.

Dans le but d'éviter la formation de ces foyers nous avons essayé d' empêcher la fructification des oliviers sauvages, ou de provoquer la chute de leurs olives, en utilisant des produits phytohormoniques comme on l'avait déjà fait pour certaines espèces d'arbres ornementaux (1) ou pour l'éclaircissage des olives (2).

A cette fin nous avons effectué des expériences préliminaires dans une oliveraie de la région de Roviès dans l'île d'Eubée **.

Nous exposons dans cette note les résultats que nous avons obtenus en utilisant deux produits phytohormoniques.

MÉTHODE ET MATÉRIEL

Les produits utilisés étaient: a) l'acide α-naphtalène-acétique en solution aqueuse et à des concentrations de 60, 70, 80, 120, 140, et 160 p.p.m., et b) le sel sodique de l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique à des concentrations de 0,5 à 1‰.

Avec ces solutions on a procédé à des pulvérisations à raison de 10 litres par arbre et en trois stades successifs:

* Reçu pour publication le 6 février 1960.

** Nous tenons à exprimer ici nos plus chaleureux remerciements à M. A. Papadopoulos d'avoir bien voulu mettre à notre disposition son oliveraie à Roviès pour la réalisation de ces expériences.

1. Peu avant l'épanouissement des fleurs de l'inflorescence.

2. Au moment de la floraison.

3. Après la nouaison, lorsque les fruits avaient un diamètre de 3 à 4 mm.*

Pour chaque cas on a utilisé des groupes d'arbres différents. A deux arbres traités correspondaient quatre témoins dont les deux avaient reçu des pulvérisations à l'eau et les deux autres n'en avaient reçu aucune.

On a ainsi utilisé 52 arbres poussant en dehors de l'oliveraie principale et destinés à être greffés avec des variétés cultivées.

RÉSULTATS

a) Action de l'acide α-naphtalène-acétique.

Les doses de 60, 70 et 80 p.p.m. appliquées aux inflorescences avant l'épanouissement des fleurs n'eurent aucun résultat apparent sur la fructification des arbres traités. La floraison et la nouaison se succedèrent normalement et sans aucun retard par rapport aux témoins.

Le second traitement effectué au moment de la floraison avec les mêmes doses n'a pas eu non plus d'action. C'est alors que, durant la floraison, nous avons traité trois arbres avec des solutions contenant 120, 140 et 160 p.p.m. Les résultats de cette intervention furent très nets : les inflorescences restèrent pendant un temps assez long à la phase de la floraison sans présenter des altérations apparentes.

Ainsi, trois semaines environ après la pulvérisation, les témoins étaient chargés d'olives d'un diamètre de 3 à 4 mm., tandis que les arbres traités, aux doses fortes précitées, se trouvaient encore à la phase de la floraison (Fig. 1). Plus tard les fleurs tombèrent et de ce fait les arbres sont restés presque sans fruits. Ce n'est qu'un très petit nombre de fruits qui se sont formés dans ce cas (10 à 15 par arbre), probablement parce que la fécondation de quelques fleurs avait précédé le traitement. Toutefois ce nombre de fruits était insignifiant par rapport aux témoins, surtout après la chute normale des fruits qui a suivi.

Ainsi, vers la mi-août, les arbres traités ne portaient finalement que 3 à 4 olives, alors que les témoins en étaient littéralement chargés.

---

* Les dates correspondant à ces stades étaient respectivement le 24-4-59, le 22-5-59 et le 11-6-59.

S. D. Démétriadès et collaborateurs : *Sur la possibilité d'empêcher la fructification des oliviers sauvages par l'emploi de produits phytohormoniques.*

II

I

Fig. 1.

Ann. Inst. Phytopath. Benaki, N.S., Vol. 3, 1960.

S. D. Démétriadès et collaborateurs: *Sur la possibilité d'empêcher la fructification des oliviers sauvages par l'emploi de produits phytohormoniques.*

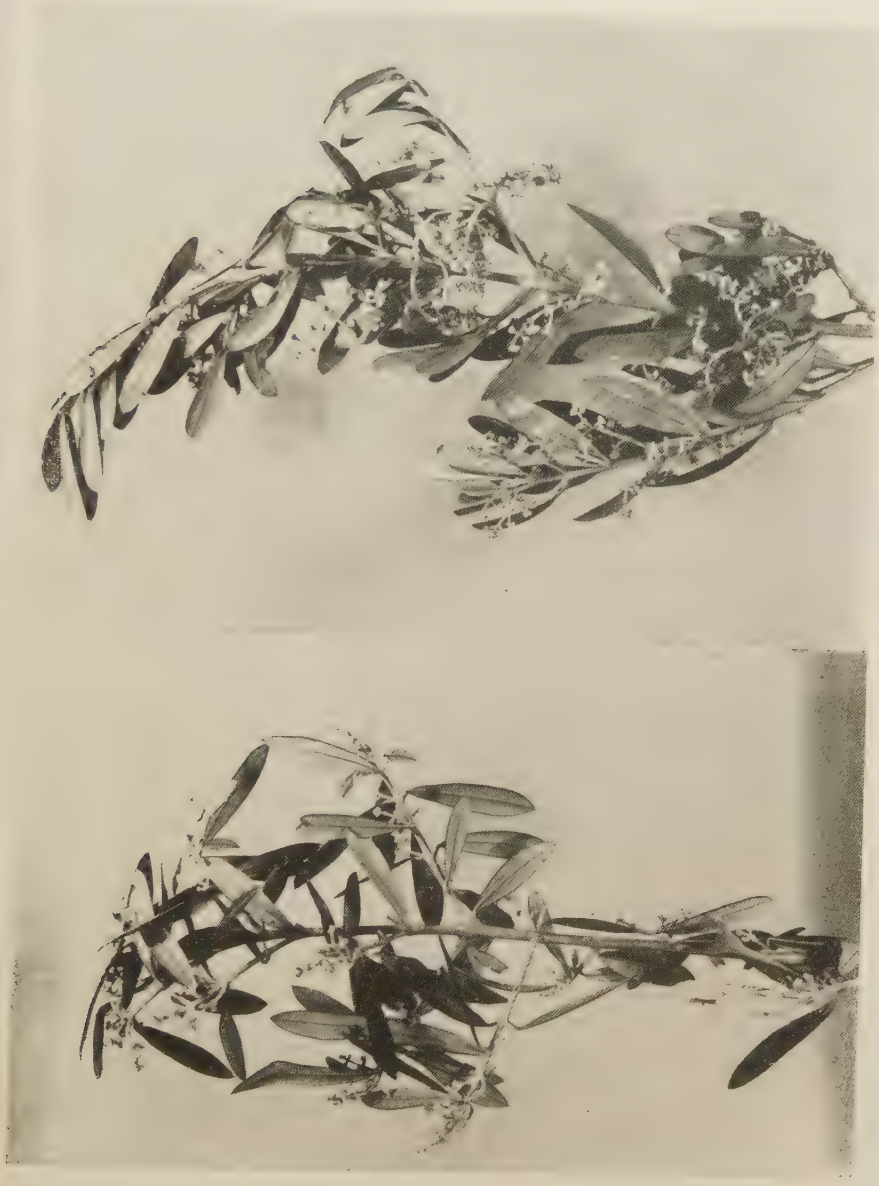


Fig. 1. Rameaux d'olivier ayant reçu, au moment de l'épanouissement des fleurs, une pulvérisation: I=d'eau (Témoin), II, III et IV: d'une solution d'acide a-naphtalène acétique respectivement à la concentration de 120, 140 et 160 p.p.m. Chez le témoin (I) les olives ont été formées normalement. Chez les autres groupes (II, III et IV) les fleurs ont été desséchées et restées pendant longtemps sur l'arbre.

S. D. Démétriadès et collaborateurs : *Sur la possibilité d'empêcher la fructification des oliviers sauvages par l'emploi de produits phytohormoniques.*

Fig. 2. Rameau d'un olivier ayant reçu, au moment de l'épanouissement des fleurs, une pulvérisation au 2,4-D à 1‰. Pas de fruits. Les fleurs desséchées sont restées sur place.

Les concentrations de 80, 120, 140 et 160 p.p.m. données par des pulvérisations après la nouaison n'ont eu aucun résultat sur la chute des olives déjà formées.

Dans tous les cas précédents aucun symptôme de toxicité ne fut signalé.

b) Action du sel sodique de l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique.

Ce produit a été utilisé à la concentration de 1 °/₀₀. Deux jours après le traitement les arbres présentèrent des symptômes d'intoxication. Ceux ci consistaient dans un flétrissement des pousses, jusqu'à une longueur de 10 cm à partir du sommet, suivi d'un desséchement des extremités. Les feuilles ont été nécrosées et tombèrent peu après.

Toutes les inflorescences sont restées sur place. Les quelques fleurs qui s'épanouirent n'avaient pas de pollen. Mais la majorité des fleurs sont restées fermées et leurs étamines présentaient une teinte brun foncé. Finalement toutes les inflorescences se sont desséchées et en conséquence il n'y eut pas formation de fruits.

La même concentration utilisée pendant la phase de la floraison a empêché complètement la nouaison. Les fleurs sont restées sur place pendant assez longtemps sans être fécondées (Fig. 2). Dans ce cas aussi les arbres traités furent endommagés.

Pour les pulvérisations au troisième stade (après la nouaison) nous avons utilisé deux concentrations, 0,5 et 1°/₀₀ de 2,4-D. Toutes deux ont provoqué des brulûres comme dans les cas précédents, mais les fruits déjà formés n'ont pas été touchés; ils ont continué leur développement ultérieur à l'exception de ceux d'un seul arbre qui ont été desséchés.

Il est a noter que tous les arbres touchés par le 2,4-D ont donné plus tard de nouvelles pousses normales.

RÉSUMÉ

Dans le but d'empêcher la fructification des oliviers sauvages pour éviter la formation de foyers du Dacus de l'olive, on a effectué des pulvérisations avec des solutions d'acides α-naphtalène-acétique et 2,4-dichlorophénoxyacétique (ce dernier sous forme de sel sodique).

L'acide α-naphtalène-acétique utilisé aux concentrations de 60, 70 et 80 p.p.m. dans trois phases de l'évolution des fleurs et des fruits

(avant l'épanouissement des fleurs, pendant la floraison et après la nouaison) n'a pas donné des résultats positifs.

Les concentrations du même acide de 120, 140 et 160 p.p.m. essayées au deuxième stade (floraison) ont empêché la formation de fruits. Après la nouaison l'action était nulle. Aucun des arbres traités n'a présenté des symptômes d'intoxication.

Le sel sodique de l'acide 2,4-D à la concentration de 1‰, pulvérisé avant et pendant la floraison a eu comme effet l'inhibition totale de la fructification.

Par contre, appliqué après la nouaison à la dose de 0,5 et 1‰ il n'a nullement touché les olives formées.

Tous les arbres traités au 2,4-D ont présenté des dégâts sur les pousses et les feuilles qui furent nécrosées et desséchées. Néanmoins au bout d'un mois les arbres en question avaient de nouvelles pousses normales.

BIBLIOGRAPHIE

1. Chadwick I. C., Miller R. R. et Erskine D., 1951. — The prevention of fruit formation on some ornamental trees. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci*, **58** : 308 - 312.

2. Hartmann H. T., 1952. — Spray thinning of olives with naphthaleneacetic acid. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **59** : 187 - 195.

Ann. Inst. Phytopath. Benaki, N.S., 3: 83-90, 1960

MÉTHODE DE DÉTERMINATION DES RÉSIDUS DE L'INSECTICIDE PHOSPHAMIDON DANS L'HUILE D'OLIVE

par

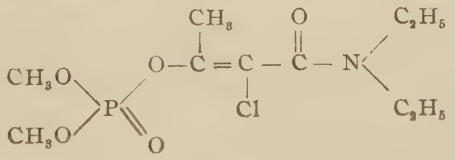
A. A. VASSILIOU, DESP. DADINAKI-ROUSSOPOULOU, PAN. BALAYANNIS et GEORGES SPYROPOULOS

Divers insecticides ont été proposés, jusqu'à présent, pour combattre le Dacus de l'olive, entre autres le Parathion, le Dipterex, le Diazinon, le Rogor, le Phosphamidon etc., qui, du point de vue chimique, sont tous des esters phosphorés, avec ou sans soufre et chlore dans leurs molécules.

Dans cette étude on s'est proposé de trouver une méthode pour déterminer les résidus de l'insecticide Phosphamidon dans l'huile d'olive.

L'insecticide en question figure dans le commerce sous des appelations diverses (Ciba 570, Dimecron 20, Phosphamidon etc.). A l'état pur et sous la température ambiante, c'est un liquide huileux, incolore ou tirant sur le jaune et inodore. Il est stable dans les solutions aqueuses mais s'hydrolyse dans les solutions alcalines.

Le phosphamidon est un insecticide systémique. La formule de sa composition est la suivante:



(2 - Chloro - 2 Diethylcarbomoyl - 1 - Methylvinul - Dimethylphosphate).

Son poids moléculaire est de 299,7. Son point d'ébulition est 144° C sous la pression de 0,1 de mercure. Il est soluble en toute proportion dans l'eau. Il est également soluble dans l'alcool, l'ether, les esters, cetones, et les hydrocarbures aromatiques.

Sa solubilité dans l'huile d'olive à la température de 25° C±0,05° C est en moyenne de 8,12% par poids.

Voici en résumé la méthode proposée par la Maison Ciba pour déterminer les résidus de la substance active du Phosphamidon dans l'huile d'olive.

On dissout une certaine quantité d'huile d'olive dans l'hexane à proportion de 1 : 10.

La substance active est tirée de la solution ainsi obtenue, par des extractions successives à l'eau.

Les solutions aqueuses réunies sont traitées deux fois au chlorure de méthyle qui entraine la totalité de la substance active. La couche de chlorure de méthyle est ensuite retirée et deshydratée par addition de sulfate de soude anhydre, puis filtrée et evaporée jusqu' à sec. On reprend ce résidu à l'aide de quelques cm^3 de chlorure de méthyle et on évapore de nouveau jusqu'à sec. On détermine la quantité du phosphore dans le résidu selon la méthode de B. L. Horecker, T. S. Maes & E. Haas et de celle-ci la quantité correspondante de phosphamidon.

Les résultats ainsi obtenus par le fabriquant, selon la méthode brièvement exposée ci-dessus, ont montré que les résidus variaient entre 88,0% et 101,0% de la quantité de l'insecticide existant dans des huiles-témoins.

Considérant que la méthode qui vient d'être décrite ne favorise pas la réalisation des analyses en série, nous avons essayé d'élaborer une méthode plus simple. Voici la méthode que nous proposons:

Réactifs et substances nécessaires.

I. Solution aqueuse de sulfate de soude, de poids spécifique 1,10 à 20° C.
II. Solvant préparé comme suit: On melange 100 cm^3 de cette solution 1 dans un ballon jaugé d'un litre avec 500 cm^3 d'eau et 400 cm^3 d'acétone, chimiquement pure. Le ballon est entièrement rempli d'eau et le tout de nouveau bien mélangé.
III. Benzène chimiquement pur.
IV. Solution d'acide sulfurique à 1%.
V. Solution de persulfate d'ammonium à 30%.
VI. Solution aqueuse de 100 cm^3: 1 gr de 2,4 diaminophenol bichlorhydrate cristallisée et 20 grs de sulfite acide de sodium ($NaHSO_3$), à 100 cm^3 d'eau, fraîchement préparée.
VII. Solution de molybdate d'ammonium à 8,50%.

Méthode pour extraire la substance active.

On pèse 100 gr. d'huile d'olive qu'on transfère dans un entonnoir à séparation d'une capacité de 300 cm^3, dont on extrait le résidu en l'agitant fortement par additions successives de 130, 100 et 80 cm^3 de solvant II.

On agite vigoureusement pendant 10 minutes pour chacune des deux premières opérations et de 5 minutes pour la troisième. Après la séparation des couches, les extraits acétoniques sont transvasés à travers un double filtre (Carl Schleicher Schull N° 589, ruban noir) dans une fiole à vide de 500 cm^3. Puis on lave la couche d'huile avec 10 cc d'eau qui sont transferés par filtration à travers le même filtre dans la fiole à vide contenant les solutions acétoniques, ensuite le filtre est aussi lavé avec quelques cm^3 de la solution II. Les extraits acétoniques sont évaporés à l'aide d'une trompe à eau et à 30° C, jusqu'à l'élimination complète de l'acétone; l'évaporation de la solution aqueuse se poursuit ensuite à 35-40° C, jusqu'au volume de 10-15 cm^3.

La solution aqueuse des 10-15 cm^3 est transvasée par filtration dans un cylindre volumétrique. Si le filtrat est légèrement trouble, on repète la filtration en utilisant un filtre plus dur, de façon à obtenir un liquide parfaitement limpide. On lave le filtre à l'eau jusqu'à ce que le volume atteigne les 25 cm^3.

On transvase quantitativement la solution aqueuse ainsi obtenue dans un entonnoir à séparation d'une capacité de 200 cc et on procède aux extractions successives avec 80 60, 40 et 30 cc de benzène. L'agitation pour les trois premières extractions est d'une durée de 10 min. et pour la dernière extraction, d'une durée de 5 min.

A chaque extraction, après la séparation des couches, la couche benzénique est lavée avec 2-3 cm^3 d'eau, qui sont transvasés dans l'entonnoir à séparation.

Les extraits benzéniques réunis sont transvasés après filtration dans un flacon à vide de 400 cm^3. Le filtre est lavé avec quelques cm^3 de benzène. Ensuite on évapore le benzène à l'aide d'une trompe à eau à une température de 40° C. jusqu'à ce que le volume soit réduit à 10-15 cm^3. On laisse se refroidir et on le transvase dans un ballon de combustion de Kjeldhal de 50 cm^3. On lave le flacon à vide avec quelques cm^3 de benzène qu'on ajoute au même ballon. On y ajoute ensuite 2 cm^3 d'eau bidistillée et on évapore le benzène au bain-marie à 40° C et à l'aide d'un courant d'azote.

La substance active ainsi séparée est contenue entièrement dans les 2 cm^3 d'eau qui restent à la fin de cette série d'opérations.

Décomposition du Phosphamidon par oxydation.

Après avoir ajouté au ballon Kjeldhal, contenant la substance active, 2,5 cm^3 de solution de persulfate d'ammonium (V) et deux gouttes de solution d'acide sulfurique (IV), on chauffe modérement au début puis en intensifiant la flamme progressivement. Le chauffage est poursuivi jusqu'à ce que le liquide devienne entièrement clair et incolore. Vers la fin de l'oxydation on y ajoute 5-6 gouttes de solution de persulfate d'ammonium et l'on arrête le chauffage lorsque le volume est réduit à 2-3 cm^3.

Après refroidissement on ajoute environ 10 cm^3 d'eau bidistillée, on filtre, si cela est nécessaire, au moyen d'un filtre dur et on amène le volume du filtrat à 20 cm^3.

On ajoute ensuite 2 cm^3 de la solution Amidol (VI) et après avoir bien mélangé, 1 cm^3 de la solution de molybdate d'ammonium (VII).

Le tout, complété jusqu'à 25 cm^3, est bien mélangé et mis dans la cellule d'un électrophotomètre où on le laisse pendant 25 minutes à 20° C. Après quoi on mesure l'intensité de la couleur.

Nous nous sommes servis de l'électrophotomètre Fischer Model A.C., et du filtre A. 650. L'indication obtenue est comparée à celle des solutions de KH_2PO_4, de titre connu. D'après l'indice de phosphore correspondant on peut estimer la teneur en Phosphamidon.

Construction de la courbe d'étalonnage.

On prépare une solution de phosphate acide de potassium, et on prélève des quantités correspondant à 5, 7.50, 10, 12.50, 15, 17,50 et 20 γ; de phosphore. Par les indications obtenues il résulte une courbe (droite en l'occurrence) correspondant aux taux respectifs.

Parallélement on prépare une solution aqueuse de Phosphamidon et on prélève des quantités correspondant à 250, 200, 150, 100 et 50 γ; Il en resulte une courbe (en l'occurence une ligne droite) qui, en comparaison à celle obtenue avec le phosphore du KH_2PO_4, forme un angle de déviation minime, dû aux impuretés du Phosphamidon utilisé (Fig. 1).

Afin de vérifier l'exactitude de la méthode proposée, nous avons procédé aux déterminations expérimentales suivantes, sur des huiles-

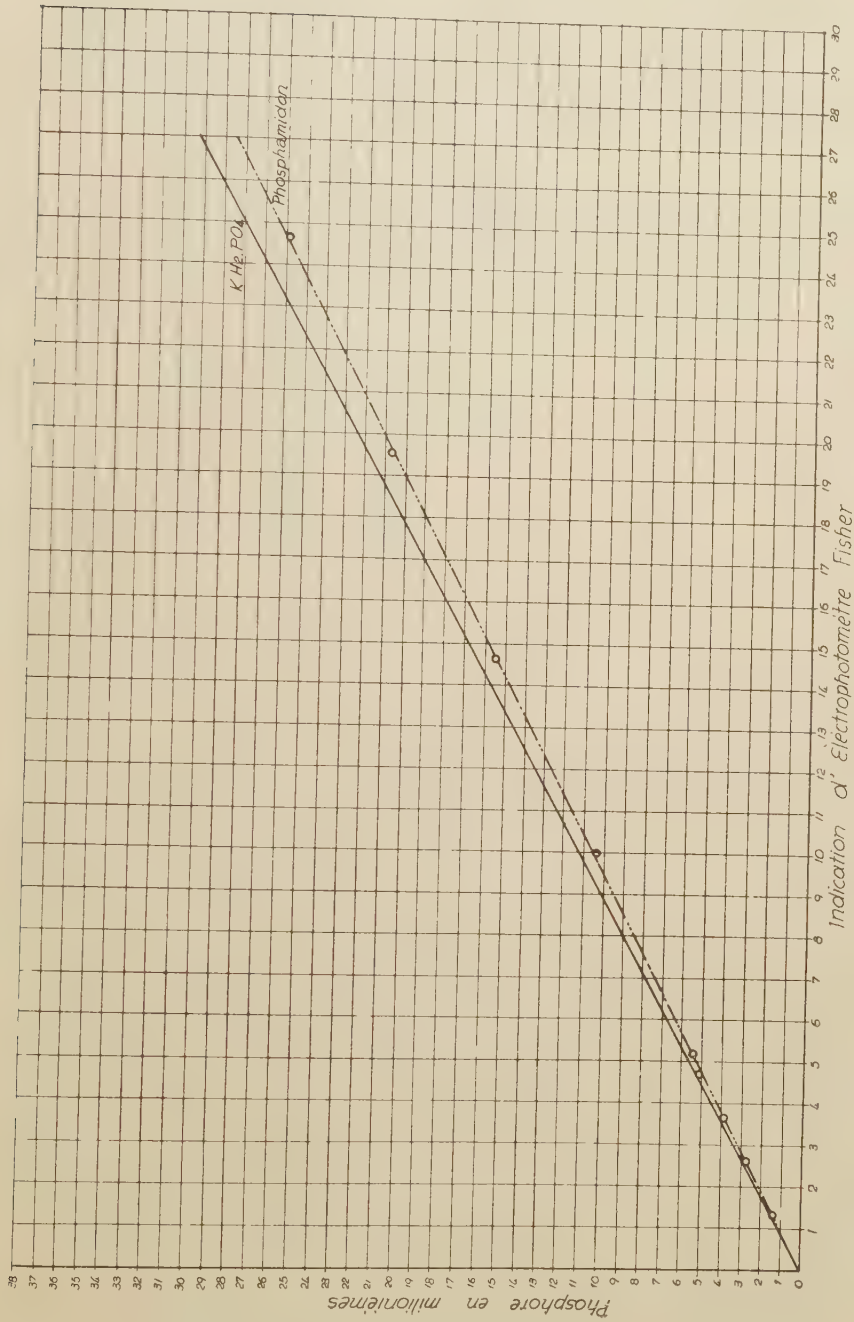


Fig. 1. Représentation graphique des valeurs en phosphore des solutions de Phosphamidon en comparaison avec les valeurs en phosphore d'une solution type KH_2PO_4.

témoins et sur des huiles contaminées avec du Phosphamidon en quantités correspondant à 0.25, 0.50, 0.75, 1, 2 et 3 p.p.m.

Ces déterminations ont été faites en triple pour chaque cas, avec un échantillon de la même huile comme témoin.

Les résultats de ces analyses figurent au tableau I.

TABLEAU I

Montrant la teneur trouvée en Phosphamidon dans les huiles contaminées avec cet insecticide.

No. d'ordre	Cas	Repetitions			Moyenne
		I	II	III	
		p.p.m.	p.p.m.	p.p.m.	
1.	Huile infectée 3 p.p.m.	2,874	2,805	2,970	2,883
2.	» » 2 »	1,780	1,840	1,880	1,833
3.	» » 1 »	0,987	0,939	0,939	0,955
4.	» » 0,75 »	0,735	0,697	0,697	0,710
5.	» » 0,50 »	0,464	0,484	0,464	0,471
6.	» » 0,25 »	0,242	0,251	0,251	0,248

Note: Les valeurs ci-dessus ont été obtenues après soustraction des témoins correspondants.

Ce qui caractérise les résultats ci-dessus c'est que tous les témoins ont indiqué des taux rapprochés de ceux de l'expérience en blanc, d'où il s'en suit que leur teneurs en phosphore est égal à zéro. Un fait notable est aussi celui de la déviation des valeurs des huiles contaminées, qui varient en moins, par rapport aux valeurs réelles entre un minimum de 0,80% et un maximum de 8,35%.

Ces écarts en moins nous paraissent tout à fait satisfaisants, compte tenu des difficultés de l'analyse et, aussi, en raison de la quantité de Phosphamidon que nous sommes appelés à déterminer tout en évitant d'entrainer simultanément du phosphore végétal, qui renverserait l'exactitude des résultats.

Dans la représentation graphique de la figure 2 nous avons porté sur l'ordonnée les valeurs réelles du Phosphamidon et sur l'abscisse les valeurs trouvées. La courbe en pointillé présente les valeurs théoriques et celle en trait plein la moyenne des résultats obtenus de trois analyses successives pour la même huile, contaminée de la même quantité de Phosphamidon.

De la place de ces deux droites on peut estimer, avec une très

grande approximation, le degré d'erreur et obtenir un résultat qui s'approche de la réalité pour des valeurs oscillant entre 0,20 et 1 p.p.m. Par exemple, pour une valeur trouvée de 0,71 p.p.m. correspond la valeur réelle en Phosphamidon de 0,75 p.p.m, ainsi qu'effectivement la valeur trouvée s'éloigne de la valeur attendue; on peut alors faire la correction nécessaire.

La méthode décrite ci-dessus est valable pour des teneurs en Phosphamidon de l'ordre de 0,15 p.p.m.

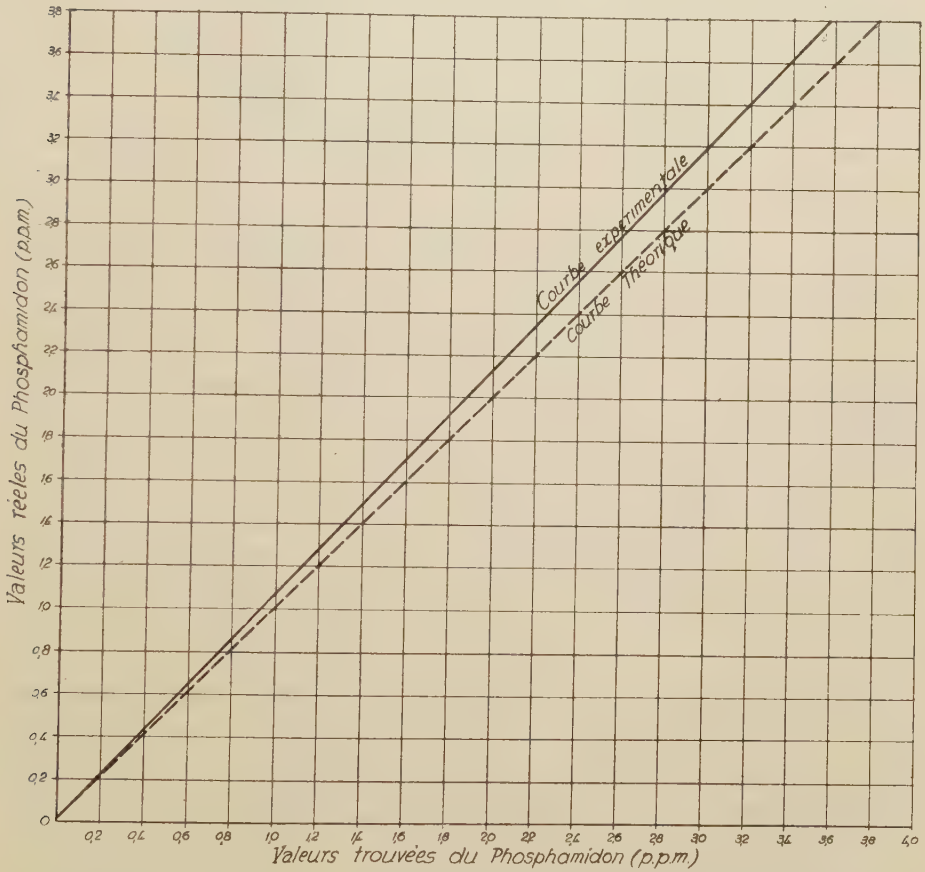


Fig. 2. Représentation graphique des valeurs trouvées de Phosphamidon en p.p.m. en comparaison avec les valeurs réelles.

Pour des valeurs inférieures à 0,15 p.p.m. on a employé la méthode d'enrichissement, décrite ci-dessous.

Méthode d'enrichissement pour déterminer les résidus de Phosphamidon dans l'huile.

On pèse 250 gr. d'huile d'olive et on procède à trois extractions à la température de 30° C en agitant fortement pendant 3 minutes chaque fois, dans un entonnoir à séparation d'une capacité de 750 cc avec 180-120-100 cc d'alcool de 95°.

Après la séparation complète des couches on réunit les solutions alcooliques et on évapore sous vide à la température de 35° C au bain-marie.

Après l'éloignement de l'alcool il reste une quantité d'huile enrichie de tout le Phosphamidon existant. Cette quantité d'huile est ensuite traitée au moyen de la méthode habituelle décrite ci-dessus, en utilisant un volume de solvant II proportionnel à la quantité d'huile obtenue.

Dans les cas où il n'y a que des traces de Phosphamidon, on peut multiplier les quantités d'huile et de solvant.

Par la méthode d'enrichissement on peut déterminer des quantités minimes, allant jusqu'à des traces. On peut aussi vérifier la valeur d'intensité de la couleur obtenue par l'électrophotomètre, suivant la méthode simple, qui présenterait une petite différence avec celle du témoin. Étant donné que la différence de valeur est due à la présence du Phosphamidon, cette différence sera le multiple de celle obtenue par la méthode simple. Dans la série des expériences effectuées sur des huilles contenant des quantités connues de Phosphamidon, les résultats obtenus présentent une erreur d'analyse entre 10 et 15 %, en moins.

CONCLUSION

La méthode proposée pour déterminer les résidus de Phosphamidon dans l'huile d' olive simplifie considérablement le contrôle des opérations, de manière à faciliter l'exécution d'analyses en serie.

La méthode d'enrichissement proposée permet la détermination des quantitées minimes de Phosphamidon, qui ne pourraient pas être déterminées par la première méthode.

CONSTANTIN A. ISAAKIDES
1880 - 1959

L'Académicien Constantin Isaakides, professeur à l'École Supérieure d'Agriculture d'Athènes et longtemps directeur de l'Institut Phytopathologique Benaki, est décédé à Athènes le 19 février 1959.

Né le 10 juin 1880 à Athènes, il y fit ses études secondaires et a obtenu en 1901 son doctorat à la Section des Sciences Physiques et Naturelles de la Faculté de Philosophie. Il poursuivit ensuite ses études en Belgique, à l'Institut Agronomique de Gembloux, dont il reçut le diplôme d'ingénieur agronome, tout en suivant les travaux des laboratoires d' entomologie et de phytopathologie. De retour en Grèce en 1904, il fut nommé professeur d'entomologie et de zoologie agricoles à l'École d'Agriculture «Cassavétios» d'Aidini (Thessalie), inaugurant ainsi une carrière de fonctionnaire où il se distingua plus tard comme directeur du service, alors nouvellement institué, de phytopathologie. Entre temps il s'était spécialisé dans l'entomologie, au cours de nombreux stages à l' étranger, où il a notamment travaillé auprès des professeurs P. Marchal, Prillieux et Griffon à Paris, J. Poskin et E. Marchal à Gembloux et A. Berlese à Florence.

Depuis 1907 il a appliqué en Grèce la méthode Berlese pour la lutte contre la mouche de l'olive.

On doit à Constantin Isaakides l'élaboration de nombreux textes législatifs, qui posèrent les fondements de l'organisation du service phytopathologique en Grèce.

Après la première guerre mondiale, Constantin Isaakides a occupé la chaire d'entomologie et de zoologie agricoles, d'abord à l'École Supérieure Forestière puis à l'École Supérieure d'Agriculture d'Athènes.

En 1920 il organisa la lutte contre la mouche de l'olive, sur trois millions et demi d'arbres aux oliveraies de la région de Pélion. Cette campagne suscita un vif intérêt auprès du gouvernement italien et, l'année suivante, le professeur Silvestri fut chargé de suivre de près les opérations qui se déroulèrent à Corfu et qui firent l'objet de commentaires élogieux de la part de Berlese, Rigotard et Malenotti.

Promu inspecteur de phytopathologie en 1921, il élabora, l'année suivante, les lois concernant le «Règlement du Service Phytopathologique Central et des Stations régionales». En même temps il assumait la direction du Service Phytopathologique au ministère de l'Agriculture, qu'il conserva jusqu'à 1936.

En 1923, lorsque feu Emmanuel Benaki, poussé par le vif intérêt qu'il portait au progrès de l'agriculture, eut résolu de constituer une fondation uniquement affectée à l'étude des proplèmes phytopathologiques du pays Constantin Isaakides prêta toute son assistance au généreux donateur. L'Institut fut inauguré en 1931 et Constantin Isaakides en fut le directeur jusqu'à 1948. C'était pour le progrès de l'agriculture, un centre de recherches de tout premier ordre.

Pendant sa longue carrière, qui s'étend sur un demi siècle, Constantin Isaakides eut l'occasion de participer à un grand nombre de congrès scientifiques à l'étranger, en qualité de représentant de la Grèce.

Outre ses remarquables applications phytopathologiques contre les ennemis des plantes cultivées, Constantin Isaakides a fait de nombreux travaux publiés dans les Annales de l'Institut Phytopathologique Benaki, dans les comptes rendus de l'Académie d'Athènes et dans des revues scientifiques de l'étranger.

En 1941 il fut élu membre suppléant de l'Académie d'Athènes, dont il devint plus tard membre titulaire.

Son enseignement de l'entomologie et de la zoologie agricoles pendant trente ans à l'École Supérieure d'Agriculture d'Athènes, à la Faculté d'Agriculture de l'Université de Thessalonique et à l'École Supérieure Forestière, sa tache d'organisateur des services phytopathologiques du ministère de l'Agriculture, ses missions si dignement remplies de représentant de la Grèce dans des congrès internationaux, les applications heureuses qu'il a mises en oeuvre contre les ennemis des plantes cultivées, enfin ses recherches expérimentales nombreuses et originales ont valu à l'académicien décédé de multiples témoignages de distinctions honorifiques : Croix de chevalier de l'Ordre du Sauveur de Grèce, Croix d'officier du même Ordre, Croix de l'Ordre duPhenix de Grèce, Médaille de membre du Conseil Agricole Scientifique International.

Constantin Isaakides fut le fondateur et le premier maître de l'entomologie scientifique en Gréce. La famille des agronomes de Grèce, qui professait le plus grand respect pour l'académicien décédé, a ressenti une profonde douleur à la nouvelle de sa mort.

CONSTANTIN A. ISAAKIDÈS

(1880 - 1959)

L'Institut Phytopathologique Benaki, où Constantin Isaakides a toujours occupé une place de premier plan, perd en lui un travailleur éminent en même temps qu'un ami.

I. TRAVAUX SCIENTIFIQUES

1. 1923 — Les ravageurs de l'olivier. Communication sur les travaux de lutte contre la Mouche des olives en Grèce. VIe Congrès International d'Oléiculture. Nice, 14-19 octobre.

2. 1927 — Nouveaux moyens de lutte experimentés et à expérimenter contre les sauterelles. Actes du Conseil International Scientifique Agricole. Première session, 7 - 12 novembre. Rome, Vol. **2** : 553.

3. 1928 — Communications : a) Intervention et aide de l'État dans la défense contre les maladies et ennemis de l'olivier. b) La Mouche de l'olive. IXe Congrès International d'Oléiculture à Tunis, Sousse et Sfax (Tunisie) 26 octobre - 8 novembre.

4. 1930 — *Aelia acuminata* sur les céréales. *Monit. Intern. Prot. Plant.*, **4** : 17.

5. 1930 — La lutte contre les sauterelles. *Monit. Intern. Prot. Plant.*, **4** : 113.

6. 1930 — Dégâts causés par le *Puccinia glumarum*. *Monit. Intern. Prot. Plant.*, **4**:148.

7. 1930 — Sauterelles. *Monit. Inter. Prot. Plant.*, **4** : 163.

8. 1931 — Apparition du Macrolépidoptère *Heliothis armigera* dans les cultures de la Macédoine. *Monit. Intern. Prot. Plant.*, **5** : 40.

9. 1931 — Lutte contre les campagnols. *Monit. Intern. Prot. Plant.*, **5** : 41.

10. 1934 — Hémiptères nuisibles aux céréales. *Monit. Intern. Prot. Plant.*, **8** : 154.

11. 1935 — Pertes causées par les ennemis des cultures et les agents météorologiques. *Monit. Intern. Prot. Plant.*, **9** : 107.

12. 1935 — Liste I des insectes et autres animaux nuisibles aux plantes cultivées et des insectes auxiliaires de la Grèce. *Ann. Inst. Phytopath. Benaki*, **1** : 1 - 12.

13. 1935 — Le pouvoir attractif de quelques appâts pour la Mouche des fruits. *Ann. Inst. Phytopath. Benaki*, **1** : 33 - 37.

14. 1936 — Liste II des insectes et autres animaux nuisibles aux plantes cultivées et des insectes auxiliaires de la Grèce. *Ann. Inst. Phytopath. Benaki*, **2** : 5 - 7.

15. 1936 — L'*Eumarchalia (Schizomyia) Gennadii* (P. Marchal) en Grèce. *Ann Inst. Phytopath. Benaki*, **2** : 17 - 25.

16. 1936 — La puissance attractive de la mélasse pour la Mouche des olives. *Ann. Inst. Phytopath. Benaki*, **2** : 26 - 34.

17. 1936 — Une chenille arpenteuse nuisible à l'olivier d'Hiérapetra en Crète [*Erannis (Hybernia) bajaria* Schiff. ab. *sordidaria* Hübn.]. *Ann. Inst. Phytopath. Benaki*, **2** : 65 - 78. Pls. I-VIII.

18. 1936 — La pyrale du jasmin [*Glyphodes (Margarodes) unionalis*] sur l'olivier. *Monit. Intern. Prot. Plant.*, **10** : 241.

19. 1937 — Ennemis du cotonnier. *Monit Intern. Prot. Plant.*, **11** : 26.

20. 1937 — *Etiella zinckenella* (Tr.). *Monit. Intern. Prot. Plant.*, **11** : 117.

21. 1937 — *Euxoa crassa* Treits., nuisible à la vigne. *Monit. Intern. Prot. Plant.*, **11** : 221.

22. 1938 — Rapport sur la situation acridienne et l'organisation antiacridienne, en Grèce. V^e^ Conférence Internationale pour les Recherches Antiacridiennes, Bruxelles, 25 août - 1 septembre.

23. 1939 — Liste III des insectes et autres animaux nuisibles aux plantes cultivées et des insectes auxiliaires de la Grèce.. *Ann. Inst. Phytopath. Benaki*, **3** : 5 - 8.

24. 1939 — La lutte contre l'Eudémis, *Polychrosis botrana* Schiff., à Vello en Corinthie. *Ann. Inst. Phytopath. Benaki*, **3** : 17 - 30.

25. 1939 — Le ver du maïs en Grèce. *Ann. Inst. Phytopath. Benaki*, **3** : 67 - 68.

26. 1941 — Les insectes nuisibles aux plantes cultivées en Grèce et quelques observations relatives. Communication faite à l'Académie d'Athènes le 27 novembre (en grec).

27. 1944 — Les insectes nuisibles aux plantes cultivées observés au cours de l'année 1943. Communication faite à l'Académie d'Athènes le 10 février (en grec).

28. 1947 — Un insecte nuisible au pistachier (*Thaumetopoea solitaria* Frr.). Communication faite à l'Académie d'Athènes le 24 avril (en grec).

29. 1947 — Le DDT contre la Mouche des Olives. Communication faite à l'Académie d'Athènes le 18 décembre (en grec).

II. AUTRES PUBLICATIONS

30. 1921 — Rapport sur les travaux de lutte contre la Mouche des olives, au cours de l'année 1920. Rapport fait au Ministère de l'Agriculture le 4 avril (en grec).

31. 1923 — Cours de Zoologie et d'Entomologie Agricoles. Partie I — Zoologie et Parasitologie. Pages 220. Édition des notes des étudiants de l'École Supérieure d'Agriculture d'Athènes (en grec).

32. 1936 — Cours de Zoologie et d'Entomologie Agricoles. Partie II — Ento-

mologie Agricole. Pages 264. Édition des notes des étudiants de l'École Supérieure d'Agriculture d'Athènes (en grec).

33. 1941 — L'Homme et les Insectes. Pages 72. Édition de l'Institut Phytopathologique Benaki (en grec).

34. 1952 — Olive Fly control in Greece. Pages 4. M.S.A. Edition, Athens.

35. 1954 — Les insectes contre les insectes. Pages 105. Athènes (en grec).

Outre les publications ci-dessus, l'académien décédé avait publié, dans les Bulletins des Ministères d'Agriculture et d'Économie Nationale, un grand nombre d'articles concernant des sujets entomologiques, ainsi que des instructions pour la lutte contre les ennemis des plantes cultivées.

Imprimerie HESTIA
Mavromihali 134
Athènes